

シクラメン芳香性種間雑種の育成と芳香性に及ぼす環境影響

著者	澁澤 直恵
発行年	2018
学位授与大学	筑波大学 (University of Tsukuba)
学位授与年度	2018
報告番号	12102甲第8828号
URL	http://doi.org/10.15068/00153812

シクラメン芳香性種間雑種の育成と芳香性に及ぼす環境影響

2018年7月

澁澤 直恵

シクラメン芳香性種間雑種の育成と芳香性に及ぼす環境影響

筑波大学大学院
生命環境科学研究科
生物圏資源科学専攻
博士（農学）学位論文

澁澤 直恵

目次

緒言	3
第1章	
シクラメン属における香気成分特性の種間変異とその利用	
緒言	6
第1節 シクラメン属における香気成分特性の種間変異	
材料および方法	6
結果	7
第2節 シクラメン近縁種 <i>C. libanoticum</i> , <i>C. cyprium</i> , <i>C. pseudibericum</i> とシクラメン栽培品種との種間雑種作出	
材料および方法	9
結果	11
第3節 シクラメン近縁種 <i>C. purpurascens</i> とシクラメン栽培品種との種間雑種作出	
材料および方法	13
結果	14
考察	17
図	23
表	49
第2章	
香りシクラメンの香気発散に及ぼす環境影響	
緒言	82
第1節 温度の影響	
材料および方法	82
結果	83

第2節 光強度の影響	
材料および方法	83
結果	84
第3節 香気発散の日変化	
材料および方法	86
結果	86
考察	87
図	91
表	102
総合考察	106
表	110
摘要	111
Summary	113
謝辞	115
引用文献	116

緒言

シクラメンは、冬季に贈答用などで利用される、人気の高い鉢花である。日本だけでなく、欧米、オセアニアの各地域で栽培されている。東京都でも、シクラメンは主要な鉢花として栽培されており、購買者が、生産者の栽培温室を訪れて花を選びながら購入する直接販売が主流である。毎年訪れる顧客も多く、多様な品種が求められている。花色や花の模様を見て購入するだけでなく、香りをかいで芳香性のある花を選ぶ購買者も多い。そのため、花色や花型だけでなく、香りについても多様性を持つ品種の育成が望まれている（読売新聞 2018）。

Bont et al. (2013)によれば、シクラメン属には23種の近縁種があるといわれており、大半が地中海沿岸に生息している。その中で *Cyclamen persicum* 野生種1種だけが17世紀初頭にヨーロッパに持ち込まれた。1739年に公開された品種は、ローズ、ホワイト、ホワイトウィズアイの3種類のみであった。その後、交配により花色は拡大したが、花はまだ小さく、*C. persicum* のもつ香りがそのまま残っていた。1850年以降、シクラメンの本格的な育種が行われ、育種目標が花の大型化、花色の拡大に特化され、香りや葉のバリエーションは重要視されなくなった。1870年に4倍体性品種の作出により、花が大型化した一方で、香気が失われた。1950年には、2倍体性品種の中で、花が大型化する個体が生じ、現代の品種につながる様々な花色、花型をもつ品種が育成されてきた。しかし、これら品種のほとんどは芳香性を持っていなかった。香りのあるシクラメンとしては、1892年に2種類の芳香性シクラメン（sweet, lemony 香気）が育成され、1911年に、選抜によりさらに3種類の芳香性シクラメンが作出された。以降、交配および選抜により数品種の芳香性シクラメンが作出された。

一方 Nagaoka (2013)によれば、日本におけるシクラメンの歴史は、1905年に、東京の園芸家がドイツから導入した種子を用いてシクラメンを育てたことから始まった。栽培、繁殖技術の開発により東京での生産が広まった。その後1923年に岐阜県に導入されたのを皮切りに、長野など、シクラメンの栽培適地である高冷地に広がり、1930年には高級鉢花として販売されるようになった。育種も進み、花型、花色が多様化し、日本の気候に適応した品種が多く育成された。1970年代には消費者から、より多様なものが求められるようになり、1990年～2005年には700品種ものシクラメンが育成された。このころには、黄色い花色のシクラメン（Takamura et al., 1993）やサカタ種苗によるアロマ、香りシリーズといった芳香性シクラメンも誕生した。このように、日本でも既存品種内での交配、選抜により芳香性シクラメンの育成は行われていたが、1995年に、石坂らが胚珠培養法を用いて、シクラメン栽培品種とシクラメンの芳香性近縁種である *C. purpurascens* との種間雑種の作出に成功したことから（Ishizaka and Uematsu, 1995）、芳香性シクラメンの育成は大きく発展することになった。

多様な品種を求める消費者のニーズの拡大により、これらの芳香性シクラメンは普及

し始めたが、まだ香りのバリエーションは限られているため、より多様な芳香性をもつ品種を作出することにより、さらに魅力が加わると考えられる。カーネーションでは、栽培品種と芳香性近縁種との交配による芳香性品種の育成が試みられている (Kishimoto et al., 2013)。現在のところ、シクラメンでは芳香性育種素材として利用されている近縁種は *C. purpurascens* 1 種である (Ishizaka and Uematsu, 1995)。Mathew and Clennett (2013) によると、ほかにも芳香性をもつとされる近縁種の記載がある。しかし、これらの近縁種の香気成分については、6 種 (*C. purpurascens*, *C. hederifolium*, *C. mirabile*, *C. rohlfsianum*, *C. cilicium*, *C. intaminatum*) について香気を分析した Clery et al. (2013) の報告があるのみで、他の近縁種の香気成分については明らかになっていない。*C. purpurascens* 以外にも芳香性を付与できる近縁種があれば、その近縁種を育種素材として活用することにより、芳香性シクラメンのバリエーションをさらに拡大できる可能性がある。

ところで、シクラメン属は同一個体のおしべがめしべよりも先に成熟する雄ずい先熟花であり、虫媒や風媒による受粉で種子が形成される他殖性植物である。環境等の影響により他殖できなかつた場合のバックアップシステムとして自殖を行うこともあるが (Mathew and Clennett, 2013)、自殖が続くことによる自殖弱性が報告されており (Wellensiek, 1961)、他殖による繁殖が主体である。そのため、シクラメン個体は遺伝的ヘテロ性を内包している。品種育成の際は個体間の均質性が求められるが、シクラメンでは形質の固定が容易ではなく、マーカーを利用した遺伝的多様性程度や均質性の判定が試みられている (Jianhua et al., 1997, Naderi et al., 2009)。このようにシクラメンは種間のみならず、種内についても遺伝的多様性を内包しているため、特性の固定が容易ではない一方で、育種上のメリットとして、種間や種内での交配により多様な形質を保有する個体群の作出が可能である。

シクラメンの最近の育種では、培養変異や遺伝子組み換えを利用した青いシクラメン (村山ら, 2011) や多弁シクラメン (Tanaka et al., 2013) が育成されており、人気を博している。このように新規性のある品種は常に求められている。花きの育種では、種間雑種を作出することにより様々な品種が生み出されている (Kishor and Sharma, 2008, Kuligowska et al., 2016)。栽培品種とシクラメン近縁種との種間雑種は *C. purpurascens* のほかにも作出されており、*C. repandum* (石坂・植松, 1990)、*C. hederifolium* (Ishizaka and Uematsu, 1992)、*C. greacum* (Ishizaka, 1996)、*C. rohlfsianum* (Ishizaka et al., 2009)、*C. africanum* (高村ら, 2002)、*C. coum* (Anika et al., 2012)、*C. mirabile* (山下・高村, 2007) の報告がある。これらの種間雑種は主に耐寒性、耐病性などの付与を目的として作出されている。種間雑種の育成素材として今まで利用されてこなかった近縁種の中には、花や葉の形質に特徴を持つ種が存在している。魅力的な形態的特徴をもつ近縁種を育種素材として利用することにより、新たな変異性を導入できる可能性がある。

そこで、第 1 章では、*C. purpurascens* 以外にも芳香性育種素材として利用できる近縁

種があるのかどうかを明らかにするために、17種の近縁種について香気成分の分析を行った。さらにその結果に基づいて、3種の近縁種 (*C. libanoticum*, *C. cyprium*, *C. pseudibericum*) と栽培品種との種間雑種育成を試み、香気成分や形態的新規形質が導入できるかどうか検証した。今回用いた近縁種は $2n=30$ であり、 $2n=48$ の栽培品種 (*C. persicum*) との種間雑種作出についての報告例はない。*C. cyprium* と *C. libanoticum*, *C. libanoticum* と *C. pseudibericum* は相互に交配できる。これら近縁種を用いて作出した種間雑種を倍加、稔性回復を行ったのち、異なる組み合わせの種間雑種間で相互に交配することにより、さらに変異を拡大できる可能性がある。バラでは、香気成分の存在比が異なる個体を選抜、育種することにより、多様な芳香性品種が作出されている (蓬田, 2015)。シクラメンは他殖性であり、ヘテロ性が高く、香気成分の生合成系の遺伝子についても各個体がヘテロ性を有している可能性が高い。Ishizaka et al. (2002) は *C. purpurascens* と栽培品種 (*C. persicum*) との種間雑種を作出し、芳香性の導入に成功している。一方、各個体のヘテロ性を考慮すると、他の *C. purpurascens* 個体を用いることにより香気成分の存在比の異なる種間雑種を作出できる可能性がある。そこで、入手した *C. purpurascens* 個体の変異性を明らかにし、これらを用いた場合、香気成分の存在比について多様性をもつ種間雑種個体群を得られるのかどうか明らかにした。

ところで、育成した香りシクラメンは、室内で観賞されることが多いが、日がたつにつれて香気が減少することが指摘されている。また、生産者の栽培温室内で販売される際、午前中は良い香りが持続するが、午後になると香りが薄くなるといわれている。これらが事実であれば、香りシクラメンの商品価値を低下させる重大な現象である。そこで、第2章では、室内展示や販売中の香気発散の変化を調査し、香気発散に対する環境の影響を明らかにすることとした。室内環境の主な要因としては温度と光が考えられるため、これらの環境要因が香気発散に及ぼす影響を調査した。特に光については、開花ステージとの関係で経時変化を明らかにした。販売中の変化については、香気の日変化を時間帯ごとに分けて調査した。ところで、機器分析によって得られる香気成分の増減が、人の感じる香気強度に連動しているかどうかについて、花では明らかにしている報告はほとんどない。Miyazaki et al. (2012) によると、タンジェリンの雑種から GC/MS で検出された 146 成分のうち官能検査では 49 成分が確認できた状況にとどまっております。GC/MS は知覚を正確には表していないとしている。Du et al. (2011) は、官能検査結果と GC/MS による成分分析の結果を総合的に評価し、官能評価に影響を及ぼす主要因となる成分を特定している。そこで、官能評価による香気強度と GC/MS によって得られる香気成分相対量の関係についても検証した。

本研究により、芳香性シクラメンに多様性をもたらすための知見を得ることができる。また、育成した芳香性シクラメンの香気発散に対する環境影響を明らかにすることで、芳香性を持続させるための方法を探る基礎的な知見を得ることができる。

第1章

シクラメン属における香気成分特性の種間変異とその利用

緒言

シクラメンの近縁種は23種あるとされており、現在のシクラメン品種は、すべて *C. persicum* の改良によって作出されている (Mathew and Clennett, 2013)。したがって、市販されているシクラメン芳香性品種は、ほとんどが栽培品種からの選抜によって育成されたものであると考えられる。Ishizaka et al. (2002) は種間雑種作出によって芳香性品種を育成しているが、交配親として使用している近縁種は *C. purpurascens* のみであり、品種数も数種にとどまっている。シクラメンの近縁種には、芳香性を持つ近縁種が複数存在することが知られている (Mathew and Clennett, 2013)。Clery et al. (2013) は6種のシクラメン近縁種 (*C. purpurascens*, *C. hederifolium*, *C. mirabile*, *C. rohlfianum*, *C. cilicium*, *C. intaminatum*) の香気成分を分析し、香気成分の特徴に基づいてシクラメン近縁種を評価している。広範な芳香性種間雑種を作出するためには、より多くの近縁種の香気成分を評価し、利用を図る必要がある。そこで本章では、入手した17種のシクラメン近縁種について香気成分を分析し、これらの有用性を明らかにすることとした。さらに、得られた結果に基づき、今まで育種素材として用いられてこなかった近縁種であり、かつフローラルな香気を保有することが明らかになった *C. libanoticum*, *C. cyprium*, *C. pseudibericum* と栽培品種との種間雑種を作出し、新規性のある芳香性の導入を試みた。あわせて形態的特性や増殖性についても調査し、新規性のある品種育成の可能性を検討した。また、既に種間雑種育成の花粉親として利用されている近縁種である *C. purpurascens* について (Ishizaka and Uematsu, 1995)、芳香性の多様化を目的として、用いる交配親の組み合わせによってどの程度変異を拡大できるのかを実証した。また、種間雑種の形態特性や開花特性について調査し、選抜する上で留意すべき点について明らかにした。作出した種間雑種個体群の中から、芳香性や形態特性に基づいて新品種を育成した。

第1節 シクラメン属における香気成分特性の種間変異

材料および方法

1) 香気成分分析

シクラメン栽培品種については、6品種(「シューベルト」、「ピュアホワイト」、「ベーターベン」、「ほのか」、「ビクトリア」およびミニシクラメン)を供試した。Tile barn nursery (UK) からシクラメン属近縁種17種の球根を入手し、これらの開花個体を供試

した。栽培品種と *C. purpurascens* 9 個体については各 1 個体ずつ、他の近縁種については、各種 2~3 個体の花冠全体をテドラーバックで覆い、上方に捕集剤 Tenax®TA を 400 mg 充填したガラス管を装着した。1000 mL/min の流速でエアープンプを 24 時間稼働させ、香気捕集を行った。香気を吸着させた Tenax® TA からサンプルを脱着した。野原らは、ダイナミックヘッドスペース法により吸着剤に吸着させた香気成分を回収する際に、香気の強いサンプルからの回収には溶媒抽出法、弱いサンプルからの回収の場合には熱脱離法を提案している(野原ら, 1991)。官能調査の結果、*C. repandum*, *C. creticum*, *C. alpinum*, *C. cilicium*, *C. libanoticum*, *C. cyprium*, *C. pseudibericum*, *C. purpurascens*, *C. persicum* は花の香気が比較的強かった。*C. mirabile*, *C. hederifolium*, *C. africanum*, *C. graecum*, *C. rohlfsianum*, *C. coum*, *C. parviflorum*, *C. balearicum* は香気が弱かった。そこで香気の分離方法としては、*C. repandum*, *C. creticum*, *C. cilicium*, *C. alpinum*, *C. libanoticum*, *C. cyprium*, *C. pseudibericum*, *C. purpurascens*, *C. persicum* については溶媒抽出を行い、*C. mirabile*, *C. hederifolium*, *C. africanum*, *C. graecum*, *C. rohlfsianum*, *C. coum*, *C. parviflorum*, *C. balearicum* については熱脱離を行った。溶媒抽出法としては、3 mL ジエチルエーテルで捕集管内の成分を脱離、45°C の温浴でエーテルを留去する方法を用いた。熱脱離法としては、Tenax®TA を 250°C で 3 分保持し、その後 250°C で 6 分間、GC/MS にスプリットレス導入する方法を用いた。脱着したサンプルを GC/MS (GC : HP-5790, MS : 日立 M-80B, イオン化電圧 20 V, イオン化室温度 200°C, カラム: ジーエルサイエンス製 BC-WAX 50 m×0.25 mm.i.d.×0.15 μm, 温度 70°C~220°C, 4°C/min) および GC/FID (GC : HP-5890 Series II, カラム: Hewlett Packard HP-20M 20 m×0.20 mm i.d.×0.10 μm, 温度 55~215°C, 4°C/min) によって分析した。

結 果

花の香気成分には 1000 を越える成分があるとされているが、その大部分は 3 つの香気生合成系によって生合成されている (Muhlemann et al., 2014)。そこで、今回検出された香気成分を生合成系に基づき、Terpenoids, Benzenoids, Fatty acid derivatives に分けて列記した。

1) 香気成分分析

溶剤抽出により回収したシクラメン属近縁種の香気成分について、検出された各成分の相対量を示した (表 1)。全ての種に共通して検出された成分は、フローラルの香気をもつ Geranylacetone のみであった。*C. repandum* の香調はフレッシュフローラルグリーンであった。35 種類の成分が検出され、Geranylacetone (33.55%) や Tridecan-2-one (10.08%) が多かった。*C. creticum* の香調はミュゲ様フローラルグリーン、アーシー

であった。20 種類の成分が検出され, Heptadecan-2-one (8.01%) や β -Bisabolene (7.35%) が多かった。 *C. cilicium* の香調はヒアシンス系アルデヒドであった。20 種類の成分が検出され, Phenylacetaldehyde が主要成分であった (38.02%)。2-Phenylathyl alcohol (3.08%) も検出された。 *C. alpinum* の香調はヒアシンス系アルデヒドであった。32 種類の成分が検出され, Phenylacetaldehyde (32.12%) と 2-Acetyl-N-methylaniline (31.33%) が多く, 2-Phenylathyl alcohol (3.28%) も認められた。 Benzaldehyde (12%) も多かった。 *C. ibanoticum* の香調はゲラニルアセトン系であった。17 種類の成分が検出され, Geranylacetone が主要成分であった (56.36%)。 *C. cyprium* の香調はレモンミュゲ調であった。29 種類の成分が検出され, Geranylacetone (42%) 次いで Geraniol (31.12%) が多かった。 *C. pseudibericum* の香調はレモンミュゲ調であった。21 種類の成分が検出され, Geranylacetone が主要成分であったが (42.81%), Geraniol (22.83%) および Nerol (12.86%) も多かった。 *C. purpurascens* の香調はフローラルフルーティーであった。62 種類の成分が検出され, 供試したシクラメン属近縁種のなかでは成分数は最多であり, 香気も強かった。 Citronellol (39.34%) 次いで (E)-2,3-Dihydrofarnesol (11.7%) が多かった。ほかにフローラルな芳香性をもたらす Geraniol (4.6%), Linalool (1.58%), Nerol (3.71%), Farnesol (2.86%), 少量でも強い芳香性を示す Methyl citronellate (0.96%), (E)-2,3-Dihydrofarnesal (0.28%), (Z)-2,3-Dihydrofarnesal (1.57%) が検出された。 *C. persicum* の香調はローズ様フローラルであった。24 種類の成分が検出され, Geraniol (29.26%) と Nerol (29.3%) が多く, Citronellol (4.58%) (E)-2,3-Dihydrofarnesol (2.29%) も検出された。

熱脱離法により分析したシクラメン属近縁種の香気成分について検出された各成分の相対量を示した (表 2)。 *C. mirabile* の香調はココナッツ様フルーティーであった。30 種類の成分が検出され, Butyl acetate (4.02%) と Calamenene (4.0%) が多かった。また, ラクトン類である Octan-1,4-olide が検出された (1.83%)。 *C. hederifolium* の香調はグリーンアルデヒド調であった。27 種類の成分が検出され, Geranylacetone (7.21%) と Anisole (6.84%) が多く, Citronellol も検出された (3.0%)。 *C. africanum* の香調は現代ローズであった。31 種類の成分が検出され, Anisole (12.4%) 次いで 6-Methyl-5-hepten-2-one (8.2%) が多く, (E)-Linalool-3, 6-oxide (2.37%), Citronellol (3.92%), Geraniol (1.53%) も検出された。 *C. greacum* の香調はオレンジ様アルデハイドックであった。22 種類の成分が検出され, Undecan-2-one が多かった (5.8%)。 *C. rohlfianum* の香調は, アルデヒド調であった。23 種類の成分が検出され, Butyl acetate (5.26%) と Nonanal (4.03%) が主要成分であった。 *C. coum*, *C. parviflorum*, *C. balearicum* の花からは, 香気が感じられなかった。香気成分量が少なく, 相対量を示すことができなかった。検出された主要成分はいずれも炭化水素類が大部分であり, 芳香性成分としては *C. coum* では Butyl acetate, Benzaldehyde, Undecan-2-one, Acetophenone, Geranylacetone が微量認められた。 *C. parviflorum* では Butyl acetate, Isoamyl acetate,

Benzaldehyde, Linolool, Acetophenone, Benzyl acetate が微量認められた。 *C. balearicum* は Butyl acetate, Benzaldehyde, Acetophenone, Citronellol, Geranylacetone, (*E*)-2,3-Dihydrofarnesol が微量認められた。

シクラメン品種を芳香性が認められた3品種と芳香性が認められなかった3品種に分け、溶剤抽出により回収した香気成分について、検出された各成分の相対量を示した(表3)。芳香性のある品種では、Geraniol, Nerol が主要な香気成分であった。Benzenoids はほとんど認められなかった。芳香性のない品種では、Caryophyllene や β -Elemene などの Hydrocarbones が主要成分であった。また、すべての個体が α -Terpineol を保有していた。

C. purpurascens では、すべての系統が Methyl citronellate, (*E*)-2,3-Dihydrofarnesol, (*E*)-2,3-Dihydrofarnesol, (*E,Z*)-Farnesol, (*E,E*)-Farnesol を保有していた。また、Citronellol が主要成分であった。Geraniol, Nerol の存在比には個体差があり、Geraniol, Nerol がともに少ない2系統(40-1, 40-2), Geraniol が Nerol の2倍程度またはそれ以上である3系統(39-5, 40-3, 40-7), Nerol が Geraniol の2倍程度またはそれ以上である2系統(39-3, 39-8), Geraniol と Nerol が同程度である2系統(13-1, 40-8)が認められた。Benzenoids については、すべての系統が、Benzyl-CoA を前駆体とした Benzyl benzoate への生合成系を保有していた。Benzyl acetate への生合成系は系統13-1で認められた。Methyl benzoate への生合成系は、系統13-1, 39-3, 39-5, 40-1, 40-3, 40-8で認められた。Fatty acid derivatives については、系統13-1, 40-3で Butyl acetate が検出され、系統13-1, 40-3, 40-7で Decan-1,4-olide や 2-Methylbutan-1,4-olide といった Lactons が検出された(表4)。

第2節 シクラメン近縁種 *C. libanoticum*, *C. cyprium*, *C. pseudibericum* とシクラメン栽培品種との種間雑種作出

材料および方法

1) 交雑性および胚発達の観察

花粉親としては、第1節の結果から、フローラル香気を持つことが明らかになり、かつ花粉が十分量採取できた近縁種 *C. libanoticum*, *C. cyprium*, *C. pseudibericum*, *C. cilicium*, *C. alpinum* を供試した。栽培品種「シューベルト」に対して、これら近縁種および栽培品種の花粉を授粉した。花梗が軟化せずに生存している子房(莢)数を交配後一週間ごとに確認した。花梗が軟化した時点で子房(莢)を採取し、内部で生育していた未熟種子数を調査した。対照区である栽培品種間の交配では、完熟種子数を調査した。交配後3週目と4週目の子房についてパラフィン切片を作成し、胚の発達を観察した。

2) 胚珠培養による種間雑種作出と形態特性評価

① *C. libanoticum* との種間雑種

種子親として「ピュアホワイト」および「あけぼの」を用いて *C. libanoticum* の花粉を授粉し、胚珠をショ糖 60 g/L を添加した MS 培地で培養した。得られた個体について、染色体、花、葉の形態、開花期間を調査した。

② *C. cyprium* との種間雑種

種子親として「ハイドン」および「シューベルト」を用いて *C. cyprium* の花粉を授粉し、胚珠をショ糖 60 g/L を添加した MS 培地で培養した。得られた個体について、染色体、花、葉の形態、開花期間を調査した。

③ *C. pseudibericum* との種間雑種

種子親として「シューベルト」を用いて *C. pseudibericum* の花粉を授粉し、胚珠をショ糖 60 g/L を添加した MS 培地で培養した。得られた個体について、染色体および葉の形態を調査した。

④ *C. libanoticum* との種間雑種および *C. cyprium* との種間雑種の香気成分の分析

花冠全体にテドラーバックをかぶせ、Porous polymer を充填した absorbent cartridge (ORBO 42-small : Sipelco, Bellefonte, PA, USA) を上方に装着した。活性炭を通した空気を小型エアープンプによってテドラーバッグ内に吸引し、テドラーバック内のヘッドスペースガスを吸引 (500 mL/min) して捕集剤に導入することにより香気を捕集した。香気捕集は、24 時間連続で行った。2 mL の再蒸留ヘキサンにより香気成分を溶媒抽出し、内部標準として n-デカン酸エチル 20 µg を添加し、溶媒除去した濃縮物 1 µL をスプリットレスで導入した。GC/MS (GC : Agilent Technologies 6890N, MS : JEOL, MS-600H, イオン化電圧 70 V, イオン化室温度 210°C, カラム : Agilent Technologies 製 DB-5MS 25 m × 0.25 mm i.d. , 0.25 µm, 温度 45°C~280°C, 10°C/min) および GC/FID (GC : Agilent 6890, カラム : DB-WAX 30 m × 0.25 mm i.d. , 0.25 µm) によって分析し、Chemstation software (Ver. A 10.01, Agilent Technologies) および標準物質を用いて解析した。*C. libanoticum* との種間雑種は 8 花、*C. cyprium* との種間雑種は 10 花が開花していたことから、捕集した総香気量を開花数で除し、1 花当たりの成分量を示した。

3) 種間雑種の増殖

① *C. libanoticum* との種間雑種および *C. cyprium* との種間雑種の培養による増殖

種間雑種の葯を 2.4-D 5 mg/L を含む MS 培地で培養し、不定胚および不定芽形成葯数を調査した。

② *C. libanoticum* との種間雑種の倍加と、倍加個体の形態特性および花粉稔性調査

種間雑種の葯を 2.4-D 5 mg/L を含む MS 培地で培養し、得られた embryogenic カルスをコルヒチンを 50~200 mg/L 含む MS 培地に広げて置床した。コルヒチン処理後 5 日目または 15 日目にコルヒチン無添加 MS 培地に移した。移植 4 か月目に再生個体数を調査した。各処理区で得られた再生個体のうち各 20 個体ずつを供試し、核あたり DNA 量をフローサイトメーターで計測した。200 mg/L で 15 日間コルヒチン処理した処理区において倍加を確認した 9 個体を順化、育成した。それぞれの個体について花と葉の形態を調査した。さらに、酢酸カーミン液で花粉を染色して可稔花粉数を調査した。

結果

1) 交雑性および胚発達の観察

C. cilicium および *C. alpinum* を花粉親として用いた交配では、胚珠培養による種間雑種は得られなかった。そのため、以降の実験は花粉親として *C. libanoticum*, *C. cyprium*, *C. pseudibericum* を供試した種間雑種について行った。

完熟種子が形成された場合でも花梗は軟化するが、種子が未熟なまま枯死した場合も花梗は軟化する。その場合、子房はそれ以降生存できない状態であると考えられる。そこで、交配数あたりの軟化していない花梗数の割合を生存率として図 1 に表した。*C. pseudibericum* や *C. cyprium* の花粉を受粉した場合、子房の生存率は急速に低下し、10 週目で 20% 程度になった。*C. libanoticum* は生存率の低下が上記二種より遅く、15 週目で 20% 程度になった。なお、14 週目以降は *C. libanoticum* の生存率が対照区である栽培品種同士での交配による生存率を上回ったが、これは対照区の場合、12 週目以降では種子の完熟により花梗の軟化が急速に進んだためである。軟化した花梗の莢を採取し、剥皮したところ、すべての莢において種子が認められた。対照区では形成した種子数は莢あたり多い週では 80 個以上であったのに対し、近縁種との交配では形成した未熟種子数は多い週でも莢あたり 30 個程度であった。また、近縁種との交配では完熟種子は得られなかった (表 5)。

いずれの近縁種を交配した場合でも交配後 3 週目では一核の胚が認められた。また、交配後 4 週目では多核の胚が認められた (図 2)。しかし、4 週目での胚発達速度は対照区より遅く、分裂した細胞数は対照区より少なかった。また、対照区と異なり、胚乳も発達していなかった。

2) 胚珠培養による種間雑種作出と形態特性評価

C. libanoticum では交配後 4 週目、3 週目の両方で胚珠培養によりシュートが形成されたが、3 週目のほうが再生率は 14.0% で高かった。*C. cyprium*, *C. pseudibericum* では交配後 4 週目の胚珠からは再生個体は得られなかった。交配後 3 週目の胚珠では、*C.*

cyprium では 8.6%の再生率でシュートが形成され、*C. pseudibericum* では 3.1%の再生率で不定胚が形成されることにより個体が再生した (表 6)。

① *C. libanoticum* との種間雑種

交配親の形態を図 3 に示した。「ピュアホワイト」との種間雑種および「あけぼの」との種間雑種についてそれぞれ 1 個体ずつを得た (図 4)。種間雑種では、*C. persicum* 由来の 24 本の小型の染色体と *C. libanoticum* 由来の 15 本の大型の染色体が認められた (図 5)。種間雑種では、*C. libanoticum* 特有のグラデーションの花色や波形の花口模様は現れなかった。栽培品種及び *C. libanoticum* の葉では斑が明瞭であるが、種間雑種の葉は斑が不明瞭か、ほとんど認められなかった (図 6)。種間雑種の花弁長、花弁幅は、両親の中間値であった。種間雑種の花弁は、*C. libanoticum* と同様に細弁であった。栽培品種、*C. libanoticum* とともに花弁は表裏とも花色はほぼ同じであったが、「ピュアホワイト」との種間雑種の花色は花弁表が strong purplish pink、裏が purplish pink であり、「あけぼの」との種間雑種では花色は花弁表が vivid red pink、裏が bright red purple であった。このように種間雑種では花弁の表と裏で花色が異なる特徴が認められた。種間雑種の開花期間は 11 月から翌年の 6 月であった (表 7)。種間雑種の葉の大きさは栽培品種に近く、*C. libanoticum* より大きかった。近縁種の葉は丸形で長幅比は 1.0 であるが、種間雑種はいずれも葉の長幅比が 1.1 であり栽培品種の長幅比と同様であった。葉の形も心臟型であり、栽培品種と同様であった (表 8)。香気成分としては α -Terpineol、(E,E) - α -Farnesene が主要成分であった。*C. libanoticum* からの導入が期待された Geranyl acetone は検出されたが (3.0%)、芳香性は感じられなかった (表 9)。

② *C. cyprium* との種間雑種

交配親の形態を図 7 に示した。「ハイドン」との種間雑種 2 個体および「シューベルト」との種間雑種 1 個体を得た。種間雑種は底紅が明瞭であったが *C. cyprium* の特徴的なハート型の花口部分の模様の導入は、認められなかった。また *C. cyprium* の特徴である花口部の突起も認められなかった (図 8, 図 9)。種間雑種では、*C. persicum* 由来の 24 本の小型の染色体と *C. cyprium* 由来の 15 本の大型の染色体が認められた (図 10)。種間雑種では花弁長、花弁幅ともに両親の中間値であった。いずれの種間雑種も花弁は細弁であった。「ハイドン」との種間雑種では、花色は花弁表が strong purplish pink、花弁裏が pale purplish pink であった。「シューベルト」との種間雑種では、花色は花弁表が purplish pink、花弁裏が pale purplish pink であった。このように種間雑種では花弁の表と裏で花色が異なる個体が認められた。開花期間は 11 月から翌年の 6 月までであった。(表 10)。近縁種の葉の長幅比は 1.1、「ハイドン」は 1.0 であるが、「ハイドン」との種間雑種では 1.3 で両親より長細くなる傾向があった。栽培品種と *C. cyprium* の葉では斑が明瞭であるが、種間雑種の葉は斑がほとんど認められない個体と、斑が明瞭な個

体が得られた (表 11). 香気成分としては, α -Terpineol, Geranylacetone が主要成分であり, *C. cyprium* からの導入が期待された Geranylacetone は検出されたが (13.72%), 芳香性はほとんど感じられなかった (表 12).

③ *C. pseudibericum* との種間雑種

交配親の形態を図 11 に示した. 胚珠培養により embryogenic カルスが発生し, その後, 球状体が形成され, 培養開始後 3 年目に一部の球状体からシュート形成が認められた (図 12). さらに一部のシュートから葉が展開し, 葉の展開 1 年後に発根が認められ, 培養開始後 4 年目に葉と根が形成した再生個体 2 個体を得た (図 13). しかし根は発達が悪く, 短い太い根が少数発生することどまっていた (図 14). 種間雑種では, *C. persicum* 由来の 24 本の小型の染色体と *C. pseudibericum* 由来の 15 本の大型の染色体が認められた (図 15). 展開した葉は, 浅めではあるが, 交配親である *C. pseudibericum* と同様に, 辺縁部が鋸歯状であった (図 13, 表 13). 栽培品種と *C. pseudibericum* の葉では斑が明瞭であるが, 種間雑種の葉は斑が不明瞭であった. 葉の長幅比は「シューベルト」が 1.1, *C. pseudibericum* が 1.2 であるのに対し種間雑種では 1.1 であり, 栽培品種に近かった (表 13). 成長が非常に遅く栽培開始 2 年目においても開花が認められなかった.

3) 種間雑種の増殖

C. libanoticum との種間雑種については薬の培養により置床薬数あたり 83%以上の高い効率で不定胚, 90%以上の高い効率で不定芽を得ることができた. *C. cyprium* との種間雑種については薬の培養により, 置床薬数あたり 10~12%程度の形成率で, 不定胚を得ることができた (表 14).

C. libanoticum との種間雑種の倍加処理については, いずれの濃度のコルヒチン処理区でも球状体からの再生による個体を得られ, フローサイトによる測定の結果, 複二倍体を得られていることが確認できた (図 16). 再生した個体数あたりの複二倍体数の割合 (倍加率) は, 200 mg/L・15 日処理区で最も多くなった. シュート再生数×倍加率により推定される倍加個体数は, 200 mg/L・5 日処理区で最も多くなった. (表 15). 複二倍体は花弁幅が大きくなり, 花弁の長幅比は複半数体が 2.0 であるのに対し, 複二倍体では 1.4~1.7 であり, 丸みを帯びる傾向があった (図 17, 表 16). 花弁数は, 複半数体が 5 枚であるのに対し, 複二倍体では 5~7 枚であり, 花弁数が増加する個体が確認された. 可稔花粉率は複半数体では 1.8%であったが, 倍加しても低く, 8%未満であった (表 16).

第 3 節 シクラメン近縁種 *C. purpurascens* とシクラメン栽培品種との種間雑種作出

材料および方法

1) 交雑性および胚発達の観察

栽培品種「シューベルト」に対して、*C. purpurascens* および栽培品種の花粉を授粉した。花梗が軟化せずに生存している子房（莢）数を交配後1週間毎に確認した。花梗が軟化した時点で子房（莢）を採取し、内部で生育していた未熟種子数を調査した。対照区である栽培品種間の交配では、完熟種子数を調査した。交配後3週目と4週目の子房についてパラフィン切片を作成し、胚の発達を観察した。

2) 胚珠培養による種間雑種作出と特性調査

種子親として二倍体性シクラメン栽培品種「シューベルト」、「あけぼの」、四倍体性シクラメン栽培品種「ビクトリア」を用いて *C. purpurascens* の花粉を授粉し、胚珠をショ糖 60 g/L を添加した MS 培地で培養した。なお、「ビクトリア」については芳香性のある個体を用いた。得られた個体について、染色体、花、葉の形態、開花数を調査した。*C. purpurascens* 系統についても花き形態と開花期を調査した。

シクラメン栽培品種「あけぼの」1個体に *C. purpurascens* 系統 40-3 の花粉を授粉し、胚珠培養により種間雑種 6 個体を得た。同様に栽培品種「シューベルト」1個体に *C. purpurascens* 系統 40-2 の花粉を授粉し胚珠培養法により種間雑種 5 個体を得た。官能検査により種間雑種の香気の有無を確認し、芳香性が認められた個体について溶媒抽出法を用い、第1章、第1節の方法により香気成分の分析を行った。

3) 登録品種の特性調査

種間雑種の中から、3個体を選抜し登録品種とした。これら品種の形態的特性および香気成分を調査した。

4) 登録品種の組織培養による増殖の検討及び得られた培養個体の特性評価

葉切片を BA1 mg/L, NAA0.1 mg/L を添加した 1/3MS 培地に置床し、葉切片からの不定芽形成率を調査した。複半数体品種である「さわや香ミディ」から培養によって得られた複二倍体について、染色体、花、葉の形態、香気成分を調査した。「さわや香ミディ」および「おだや香」の花粉を酢酸カーミン液で染色し、可稔花粉率を調査した。可稔花粉率が 80%以上であった個体を用いて自殖を行い、採種数、発芽種子数を調査した。

結果

1) 交雑性および胚発達の観察

C. purpurascens との種間雑種の子房の生存率は交配3週目から低下し始め、9週目以降に急速に低下し、14週目で0%になった。対照区では、12週目以降では種子の完熟

により花梗の軟化が急速に進んだ (図 18). 軟化してした花梗の莢を採取し, 剥皮したところ, すべての子房において種子が認められたが, 種間雑種では完熟種子は得られなかった (表 17). 種間雑種, 栽培品種のいずれにおいても, 交配後 3 週目では一核の胚が認められた. また, 交配後 4 週目では多核の胚が認められた (図 19).

2) 胚珠培養による種間雑種作出と特性調査

種間雑種の胚珠培養では, 交配後 3 週目, 4 週目, 5 週目のいずれの区でも再生個体が得られたが, 再生率は 4 週目が最も高く 41.6%であった (表 18). 種間雑種の染色体像を図 20 に示した. 二倍体性栽培品種を用いた交配では, *C. persicum* 二倍体栽培品種 (48 本) と *C. purpurascens* (34 本) との種間雑種は 41 本, 四倍体性栽培品種を用いた交配では, *C. persicum* 四倍体栽培品種 (96 本) と *C. purpurascens* (34 本) との種間雑種は 65 本で, 両親の中間になっていた.

C. purpurascens の花は小さく, 花弁長は大きい系統でも 2.8 cm 程度であった. 花弁は細弁で, 花弁長幅比は 1.6 以上であった. 開花は夏季中心に一度咲きする系統と, 夏季と冬季の二度に咲く二度咲き系統が認められた (表 19). 形態特性としては, 種間雑種では, 花弁長, 花弁幅, 花茎径, 葉長, 葉幅, 葉厚, 葉柄径は両親の中間になっていた. 花茎長および葉柄長は両親より長くなる傾向があった. 栽培品種は, 花弁長と花弁幅が同程度で丸弁であるが, 種間雑種は細弁になる傾向があった (表 20). 種間雑種の花弁長, 花弁長幅比は, 用いた花粉親の花弁長, 花弁長幅比と相関が認められなかった (図 21).

開花数の推移については, 秋期から冬期にかけて開花数があまり変動せずに推移する系統 (No.3, No.6) と秋期に開花数が多いが, 冬期に一度減少し, 春期に最も開花数が多くなる二度咲きする系統 (No.1, No.2, No.4, No.5) が認められた. 二度咲きする花粉親系統 39-8 を用いて得られた種間雑種 No.1 は二度咲きになった. また, 一度咲きの花粉親系統 40-7, 40-2 を用いた種間雑種 No.2, No.4, No.5 も二度咲きになった (図 22).

種間雑種の香気成分相対量について表 21 に示した. 栽培品種は α -Terpineol や Undecan-2-one といったウッディー, グリーン成分を保有していた. フローラル成分については, 栽培品種「あけぼの」では Nerol, Geraniol がわずかに検出された. 種子親として栽培品種「あけぼの」, 花粉親として *C. purpurascens* 系統 40-3 を用いた場合は, Citronellol, Nerol, Geraniol の存在比にバリエーションのある種間雑種群が得られた. たとえば, hybrid1 は Citronellol が最も多く, 次いで Geraniol, Nerol, hybrid2 は Nerol が最も多く, 次いで Citronellol が多く存在しており, hybrid3 は Citronellol, Geraniol, Nerol が同程度存在するというようなバリエーションが認められた. 一方, 栽培品種「シューベルト」では Nerol, Geraniol を検出できなかった. 種子親として栽培品種「シューベルト」, 花粉親として *C. purpurascens* 系統 40-2 を用いた場合,

Geraniol が主体となっている hybrid11 のような例外があるが、おおむね種間雑種は Citronellol 主体になり, Nerol や Geraniol は相対的に少なくなった. Methyl citronellate は、「あけぼの」を交配親にした場合は 6 個体中 3 個体, 「シューベルト」を交配親にした場合は 5 個体中 3 個体の種間雑種で検出された. (E,Z)-Farnesol, (E,E)-Farnesol, (E)-2,3-Dihydrofarnesol は, どちらの交配組み合わせでも, 作出したすべての種間雑種で検出された. Hybrid2 のように(E)-2,3-Dihydrofarnesol の相対量が高い個体もあった. フルーティー成分としては, 「あけぼの」との交配の場合ではすべての種間雑種, 「シューベルト」との交配の場合は 5 個体中 2 個体の種間雑種で, 強いフルーティー香気をもつ Butyl acetate が検出された. 種間雑種で検出された Butyl acetate については, 「あけぼの」との交配の場合は, *C. purpurascens* 由来であったが, 「シューベルト」との交配の場合は, 栽培品種由来であった. Methyl benzoate, Methyl caprylate はいずれの種間雑種でも検出されなかったが, ほかのフルーティー成分の Benzaldehyde, Decan-1,4-olide, Butyl acetate, Methyl caprate については, 複数の種間雑種で導入が認められた. 「シューベルト」との種間雑種では, 栽培品種の埃くさいにおいの原因である α -Terpineol を保有しない個体が, 3 個体認められた. 「あけぼの」との種間雑種では, 両親で検出されない Benzyl acetate が, 種間雑種では検出されるという現象がみとめられた. 「シューベルト」との種間雑種でも, 両親で検出されない Benzyl alcohol が検出される種間雑種個体が存在した.

3) 登録品種の特性調査

二倍体性栽培品種「シューベルト」を種子親とする品種「さわや香ミディ」, 同じく二倍体性栽培品種「あけぼの」を種子親とする品種「おだや香」, 四倍体性栽培品種を種子親とする品種「はる香ミディ」を品種登録した. 「さわや香ミディ」の花色はピンク色で, 葉の辺縁部に斑が入りハート様になる特徴があった. 「おだや香」の花色は赤紫色で, 葉の斑が薄く, 全体に濃い緑色を呈する特徴があった. 「はる香」は, 花卉に赤紫の縁取りのある覆輪になった (図 23). 表 22 に示したように, いずれもやや小ぶりの品種であり, 花卉幅が小さく細弁となった. 香気特性としては, 「さわや香ミディ」は, フローラル香気をもたらす Citronellol, Geraniol, Nerol, (E)-2,3-Dihydrofarnesol, Methyl citronellate を保有していた. 「おだや香」は Citronellol, Geraniol, Nerol, (E,E)-Farnesol, (E)-2,3-Dihydrofarnesol, 強いフルーティー香気を付与する Butyl acetate を保有していた. 「はる香ミディ」は, Citronellol, Geraniol, Nerol, Methyl citronellate, (E,E)-Farnesol, (E)-2,3-Dihydrofarnesol を保有していた (表 23).

4) 登録品種の組織培養による増殖の検討及び得られた培養個体の特性評価

葉切片培養による不定芽形成率は, 「さわや香ミディ」が 96%, 「おだや香」が 88%, 「はる香ミディ」が 52%であった (表 24). 複半数体品種である「さわや香ミディ」と

「おだや香」では培養により複二倍体が出現した。複二倍体個体形成率は「さわや香ミディ」で79.1%、「おだや香」で10%であった(表25)。複半数体の染色体数は41本、複二倍体の染色体数は82本であった(図24)。花および葉の形質については、複二倍体では、花卉幅、花茎径、葉長、葉幅、葉厚、葉柄径、葉柄長が複半数体を上回っていた(表26)。主要な香気成分相対量について、表27に示した。複二倍体では、Methyl citronellate, Geraniol, Nerol, (E)-2,3-Dihydrofarnesal, (E)-2,3-Dihydrofarnesol, (E)- α -Farneseneの相対量が複半数体に比較して増加した。

可稔花粉率には、個体間差があった。「さわや香ミディ」では90%程度、「おだや香」では100%近くの染色花粉が認められる個体があった。(図25, 26)。複二倍体の自殖の結果、結実率は「さわや香ミディ」で23.2%、「おだや香」で79.1%であった。発芽種子数が少なく、交配数あたり発芽種子数はそれぞれ0.08個、0.16個となった(表28)。

考察

1) シクラメン属における香気成分特性の種間変異

芳香性をもつ栽培品種では、Monoterpenes についてはNerol, Geraniol が主体であり、Citronellol の相対量は少ない。フローラル、フルーティー香気成分が多く存在する Benzenoids については、原種である *C. persicum* がほとんど保有していないことから、栽培品種の選抜育種による導入は期待できない。芳香性品種を含む、すべての栽培品種が保有する α -Terpineol は、シクラメンではテレピン油様のおいをもたらし、香りの質を低下させる。新規性のある芳香性品種を育成するためには、①新たな芳香性成分を導入する、②相対量が少ない芳香性成分を増加させることにより、香気印象を変える、③香気の質を低下させる成分の相対量を低減化させる、などの手段が考えられる。

芳香性シクラメンの育種素材としては、既に *C. purpurascens* が用いられている。*C. purpurascens* が保有していない新規な香気成分をほかの近縁種を用いて導入することにより、新たなタイプの芳香性シクラメンを育成できる可能性がある。*C. cilicium*, *C. alpinum* はほかの近縁種にはみられない phenylpropanoid 生合成系を保有している(表1)。この生合成系は、バラでは主要な成分であり、有用な芳香性をもたらし生合成系である。生合成される Phenylacetaldehyde や 2-Phenylethyl alcohol によりヒアシンス様、ローズ様の香気を付与することができる。*C. alpinum* が保有している 2-Acetyl-N-formylaniline, 2-Acetyl-N-methylaniline, 2-Acetyl-N,N-dimethylaniline も *C. purpurascens* では検出されない芳香性成分でありそれぞれミモザ様、ライラック様、アカシア様のフローラル香気を導入できる。*C. mirabile* の Octan-1,4-olide も *C. purpurascens* では検出されない芳香性成分であり、ココナッツ様フルーティーの香気を付与できる(表2)。また、栽培品種や *C. purpurascens* が保有している成分であっても、その相対量が多い近縁種は、香気バランスを変える可能性をもつ。*C. libanoticum*, *C. cypricum*, *C. pseudibericum* はフローラル

香気である Geranylacetone の相対量が極めて多かった。Geranylacetone は、栽培品種にも存在するが、相対量が少なく香気としての寄与度は低い。そのため、これらの近縁種を用いて Geranylacetone の相対量を増加させることにより、香気印象を変えることができると考えられる。これらのことから、*C. cilicium*, *C. alpinum*, *C. mirabile*, *C. libanoticum*, *C. cyprium*, *C. pseudibericum* を有用な育種素材であると結論づけた。

2) シクラメン近縁種 *C. libanoticum*, *C. cyprium*, *C. pseudibericum* とシクラメン栽培品種との種間雑種作出

今回、種間雑種の報告例の無かった近縁種である *C. libanoticum*, *C. cyprium*, *C. pseudibericum* と栽培品種との種間雑種を作出することができた。これらの近縁種は、相互に自然交雑により種間雑種ができるくらい遺伝的に近い種であるが、今回の交配結果および胚珠培養結果から、栽培品種に対する種間雑種作出のしやすさは種によって異なり、*C. libanoticum* との種間雑種が最も作出が容易であることが明らかになった。一方、*C. pseudibericum* との種間雑種は作出が容易ではないことがわかった (表 6)。*C. purpurascens* や *C. hederifolium* との種間雑種では交配後 4 週目が胚珠培養適期であるとしている (Ishizaka et al., 1992, 1995)。*C. cyprium*, *C. pseudibericum* は交配後 4 週目でも胚は認められたが、4 週目では胚珠培養による種間雑種を得ることができなかったことから、*C. pseudibericum*, *C. cyprium* の雑種胚は、4 週目では崩壊直前であると推測される。*C. libanoticum* では、上記 2 種よりは、交配後 4 週目の胚発達も比較的良好であったことから、4 週目でも胚珠培養が成功したと考えられる。*C. libanoticum*, *C. cyprium*, *C. pseudibericum* と栽培品種との種間雑種作出については、種間雑種は得られたものの、作出できた個体数は少ない。この理由のひとつとして、今回用いた胚珠培養方法が最適ではない可能性がある。種間雑種が得られることは判明したので、今後は培養方法の改良を行い、種間雑種の作出効率を向上させるべきである。

第 1 章、第 1 節で明らかにしたように、*C. libanoticum* は Geranylacetone を主要成分として (56.36%) 多く保有していた。*C. cyprium* は Geranylacetone (42%) 次いで Geraniol (31.12%) を多く保有していた。従って、種間雑種作出により、これらの芳香性成分の導入が期待された。今回、*C. libanoticum* との種間雑種および *C. cyprium* との種間雑種は Geranylacetone の割合が高かったにも関わらず (表 9, 表 12) 芳香性はほとんど認められなかったことから、Geranylacetone を含む香気成分の発散量は低かったと考えられる。また、近縁種のもつ花口部位の特徴についても導入が認められなかった (図 6, 図 9)。高村らはシクラメン栽培品種やシクラメンの種間交雑において、底紅形質は優性形質として遺伝するとしている (高村ら, 2000, 高村・相澤, 2007, Takamura et al., 2005)。また、ネクターガイドについてはブラシカでは優性形質として遺伝するとの報告がある (Syafaruddin et al., 2006)。今回、*C. libanoticum* では、種子親に底紅のない品種を用いたところ、種間雑種は底紅が無く、*C. libanoticum* の花口部の模様は導入されなかった。

C. cyprium においても種間雑種で認められたのは種子親由来の底紅形質のみで、花口部の模様は認められなかった。 *Clarkia* では花き形質には一つの遺伝子が関わっている場合と、複数の遺伝子が関わる場合があり単純ではないことが示唆されている (Gottlieb and Ford, 1988)。今後培養方法の改良等を行い、より多くの多様な種間雑種を作出して、芳香性成分や花き形質の導入を検討すべきであると考えられる。一方、新規形質としては、*C. libanoticum* および *C. cyprium* との種間雑種で花卉の表裏の花色が異なるという特徴が認められた (表 7, 表 10)。 *C. libanoticum* や *C. cyprium* との種間雑種では、葉については、無斑やあっても斑が薄いなど、両親には見られない新しい形質を保有する個体が現れた (表 8, 表 11)。また通常シクラメン品種の開花期は秋から早春までであるが、今回得られた種間雑種の開花期はこれより長く、秋から初夏まで開花が続くという特徴がみられた (表 7, 表 10)。これらの形質の活用はシクラメン品種に多様性を付与できる可能性があると考えられる。 *C. libanoticum* と栽培品種との種間雑種では、倍加個体を作出したが、これらの花粉稔性は低かった (表 16)。これはコルヒチン処理が強すぎたため、対合ができないような遺伝子変異が生じたせいではないかと推測される。より低濃度かつ処理期間の短い処理でも倍加個体は得られていることから、今後はこうした個体を利用すれば、稔性回復を図ることができる可能性がある。一方、培養による増殖は可能であった。クローンの作出が可能であるということは、有用な個体を得たのちの大量生産が可能であることを示しており、実用化に結びつくことになる。

3) シクラメン近縁種 *C. purpurascens* とシクラメン栽培品種との種間雑種

C. purpurascens は、他の近縁種に比較して、多くの香気成分を保有しており、保有する成分やその比率には個体間差があった (表 4)。Ishizaka et al. の報告 (2002) では、彼らが用いた *C. purpurascens* では Cinnamic alcohol, Cinnamic aldehyde が検出されたとしている。本研究で用いた系統では、これらの成分は認められなかった。一方、Ishizaka et al. (2002) が用いた系統では (*E*)-2, 3-Dihydrofarnesol, (*E,Z*)-Farnesol, (*E,E*)-Farnesol は検出されていない。これらの成分は、今回用いた系統すべてが保有していた。また、今回用いた系統の一部でフルーティー香気をもたらすラクトン類が特異的に検出された。Ishizaka et al. (2002) も言及しているように、*C. purpurascens* は、香気成分について多様性があると考えられる。良質な香気を付与するためには、フローラルな香気成分やフルーティーな香気成分の導入が望ましい。Ishizaka et al. (2002) は、Cinnamic alcohol, Cinnamic aldehyde の導入によって芳香性のある種間雑種を作出している。差別化したオリジナルな芳香性個体を得るために、本研究では供試系統が特異的に保有していたフローラル香気である (*E*)-2, 3-Dihydrofarnesol, (*E,Z*)-Farnesol, (*E,E*)-Farnesol およびフルーティー香気であるラクトン類の導入を目指し、これら成分を保有する個体を得ることができた。

C. purpurascens と栽培品種の種間雑種の香気分析の結果、同じ親を使用した交配に

においても、多様な香気成分比率をもつ種間雑種個体群を得ることができた (表 21)。バラでは、Citronellol, Geraniol, Nerol の存在比が異なると香気印象が異なってくるということが分かっている (蓬田, 1992, 2015)。従って、Citronellol, Geraniol, Nerol について、様々な存在比をもつ種間雑種の作出は、異なる香気印象の個体群の育成に結びつくと考えられる。今回、系統 40-3 (Citronellol の相対量が多く、Nerol, Geraniol も比較的多い系統) との交配で、Citronellol, Nerol, Geraniol について存在比の異なる多様な種間雑種個体群ができた。系統 40-2 (Citronellol の相対量が多く、Nerol, Geraniol の相対量が少ない系統) を花粉親に用いた場合は、ほとんどの種間雑種が Citronellol 主体になる傾向があった。このことから、この 3 成分の存在比について多様化を図るためには、Citronellol だけでなく、Nerol, Geraniol の相対量も多い *C. purpurascens* 系統を花粉親として用いるべきであると推測された。また、系統 40-3 との交配で用いた種子親品種「あけぼの」は、若干であるが Nerol, Geraniol を保有していた。一方、系統 40-2 との交配で用いた種子親品種「シューベルト」ではこれらの香気成分は検出されなかった。種子親が Nerol, Geraniol を保有していたことも、Citronellol, Nerol, Geraniol について多様な種間雑種個体群ができた原因である可能性はある。*C. purpurascens* に特有の香気成分である Methyl citronellate は少量でも強い芳香性があり、導入が望まれる。今回、Methyl citronellate が導入された種間雑種を複数得ることができた。Methyl citronellate が導入されない個体 (hybridNo.4, 5, 6, 7, 10) では前駆体である Citronellal も検出されないことから、これらの個体では、Citronellol から Citronellal への生合成系酵素が導入されなかったと考えられる。また、今回用いた *C. purpurascens* に特有のフローラル成分である (*E,E*)-Farnesol, (*E*)-2,3-Dihydrofarnesol については、全ての種間雑種個体に導入できた。Sesquiterpenes の生合成系である、FPP からの Farnesol, Farnesol からの Dihydrofarnesol または、Geranylacetone への生合成は容易に導入される生合成系であった。種子親である栽培品種でも Geranylacetone が検出されていることから、両親ともに共通してこの生合成系の酵素を保有していたため導入しやすかったと推測される。Methyl benzoate は強いフルーティー香気があることから、導入による香気改変が期待されるが、今回の交配による種間雑種では導入は認められなかった。ただし、品種「さわや香ミディ」(花粉親は系統 39-3) では導入できた (表 23)。Ishizaka et al. (2002) の種間雑種でも Methyl benzoate は導入されている。このことから、本成分は導入ができない成分ではなく、用いる花粉親系統を変えることにより、本成分を保有する個体が得られることは明らかである。Benzenoids の中にはフローラル、フルーティー成分が多く、芳香性付与のためには、これら成分の導入が望まれる。栽培品種やその原種である *C. persicum* には Benzenoids 生合成系がほとんど認められない (表 1, 表 3)。今回得られた結果から、*C. purpurascens* は Benzenoids 生合成系の成分を *C. persicum* に導入することができる可能性をもつ近縁種であるといえる。ただし導入された Benzenoids の割合は 1%以下であったことから、Benzenoids による香気付与は困難と考えられる。Fatty acid

derivatives に属するフルーティ成分については、花粉親に Butyl acetate が存在する場合、本成分はすべての種間雑種に導入できた。一方、Decan-1,4-olide は、必ず入る成分ではなく、導入個体を得るためには複数個体を作成する必要があると考えられた。 α -Terpineol はシクラメン栽培品種のもつ埃くさいにおいの原因である。芳香性育種としては、香気の質を低下させる成分の相対量を低減化させることも重要である。この成分の種間雑種への導入率は高いが 100%ではないことから、種間雑種個体を選抜することにより、 α -Terpineol を持たない個体を育成することが可能である。

C. purpurascens を用いた種間雑種では、形態にも雑種特性が現れた。花は、花粉親の花の大きさが小さいため、花弁長、幅ともに両親の中間になり、栽培品種よりも小型化し、細弁になる (表 20)。シクラメンの育種上は、花弁は栽培品種程度に大きく、花弁長幅比も 1.0 に近く丸弁であることが望ましい。調査の結果、種間雑種の花弁長、長幅比は花粉親の花弁長、長幅比と相関がないことが明らかになった (図 21)。このことから、交配親を選定する際に、花粉親を花弁の大きさや花弁長幅比に基づいて選定する必要はないと考える。開花については、*C. purpurascens* には年間に一度咲くだけの系統と、二度咲きする系統があり (表 19)、二度咲する花粉親から得られた種間雑種は二度咲きになった。一度咲きの花粉親を用いた種間雑種の一部個体でも二度咲きが認められた (図 22)。これは、花粉親が遺伝的に雑駁で、一度咲きの花粉親であっても、二度咲き形質の遺伝子を内包していたためと考えられる。二度咲の種間雑種は、冬期に花数が減少する欠点があるため、二度咲形質の遺伝子を排除する方向で育種を進めるべきである。

今回、*C. purpurascens* との種間雑種からの選抜により、フローラル成分を豊富に保有している 3 品種を登録することができた (表 23)。Ishizaka et al. (2002) は、四倍体性品種を種子親に用いた場合、*C. purpurascens* との種間雑種の香り成分は *C. persicum* に近くなるとしている。本研究では、芳香性品種「はる香ミディ」の種子親として、芳香性が認められた四倍体性品種「ビクトリア」を用いている。種子親として四倍体性品種を用いた場合でも、当該品種にある程度の芳香性がある場合は、花粉親である *C. purpurascens* の香気と合わさり、芳香性品種を作出できると考えられる。登録品種の増殖については、培養による増殖が可能であることが明らかになった (表 24)。ただし、培養による自然倍加が生じることが確認された (表 25)。得られた複二倍体は、可稔花粉は認められるものの、自殖による採種率が低いことから (表 28)、登録品種の増殖は培養によって行うほうが安定供給できると考えられた。培養によって生じる複二倍体は、花弁幅が大きくなり、複数の香り成分の相対量が増加した (表 26, 表 27)。これは、花弁の面積が拡大したことと、葯や花粉の形成によりこれらから発散する香り成分が増加したためと推測される。

以上のように、本章では、シクラメン近縁種の中には、*C. purpurascens* 以外にも育種素材としての価値がある種が存在していることを明らかにした。また、報告例の無かった近縁種である *C. libanoticum*, *C. cypricum*, *C. pseudibericum* と栽培品種との種間雑種

を作出することができた。芳香性を付与することはできなかったが、これらの種間雑種では両親にない形質が現れ、これらの形質の活用はシクラメン品種に多様性を付与できる可能性があると考えられる。*C. purpurascens* と栽培品種の種間雑種については、同じ交配親を用いて作出した種間雑種であっても、様々な存在比で香り成分を保有する種間雑種群を得られることが明らかになった。他殖性であるシクラメン属植物は、香り成分の生合成に関与する遺伝子についてもヘテロで保有している可能性が高い。今回の結果から、種特異的な代謝系の導入のみならず、それぞれの個体が持つ遺伝的ヘテロ性を交配により組み合わせることで、多様性のある個体群が生じたといえる。

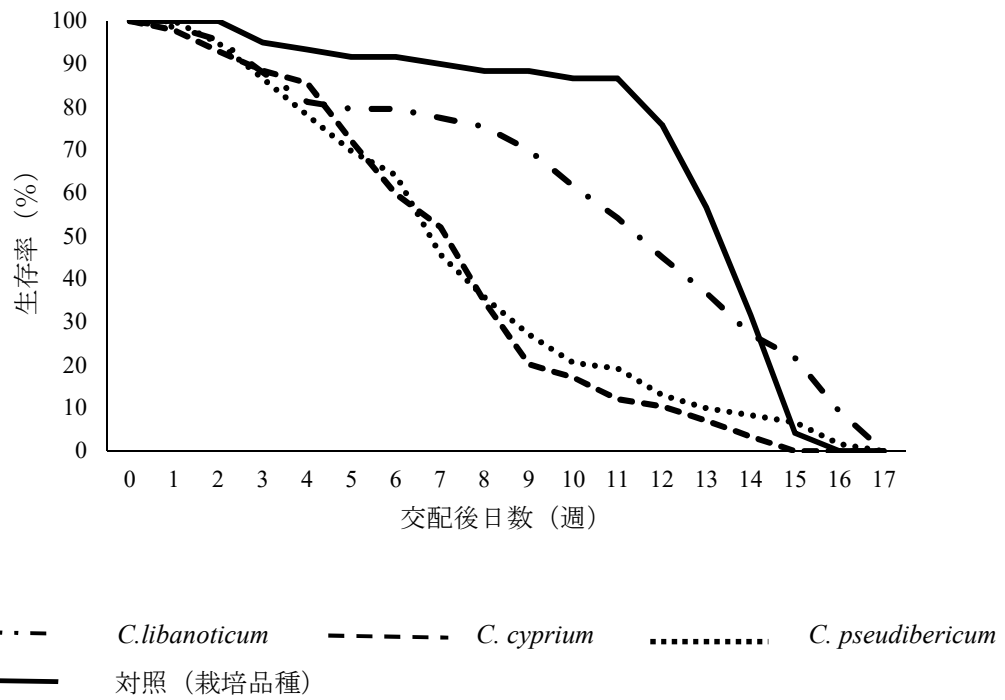


図1 シクラメン栽培品種 (*C. persicum*) と *C. libanoticum*, *C. cyprum*, *C. pseudibericum* との種間雑種子房における生存率の推移

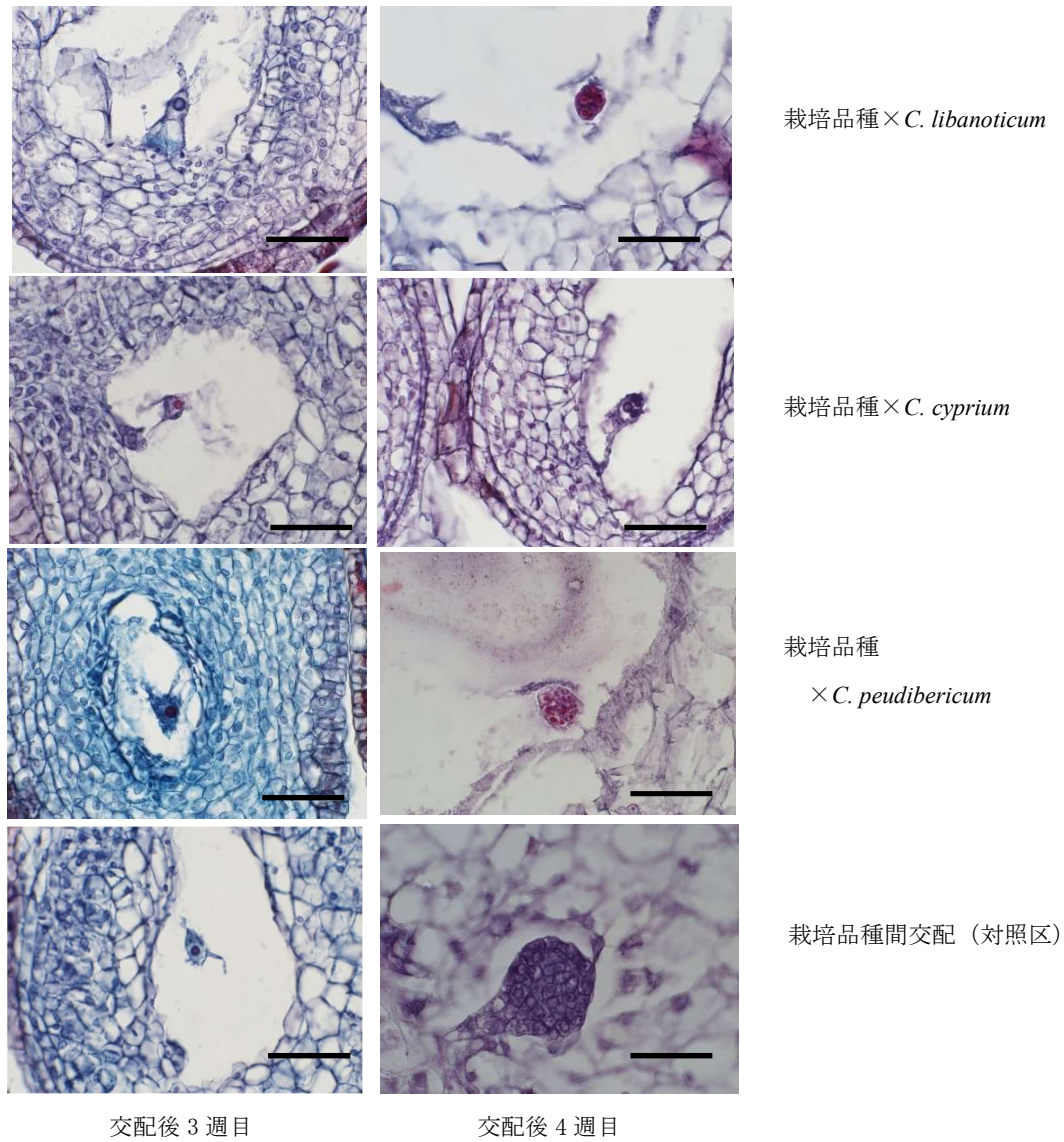


図2 シクラメン栽培品種 (*C. persicum*) と *C. libanoticum*, *C. cyprum*, *C. pseudibericum* との種間交配後の胚発達

図中 bar=100 μm



図3 交配親の花および葉

上段 花粉親 *C. libanoticum*

下段 種子親 栽培品種 (*C. persicum*)

左：品種「ピュアホワイト」 右：品種「あけぼの」

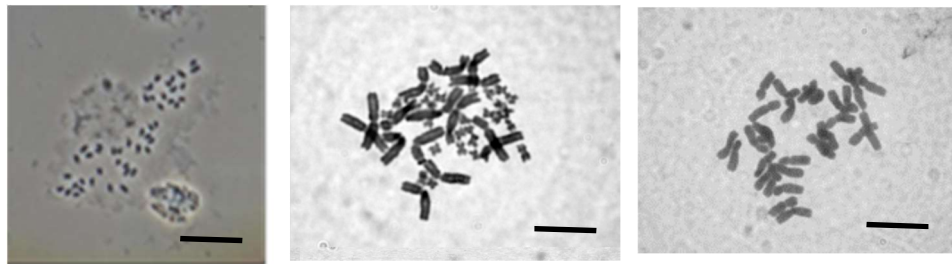


品種「ピュアホワイト」(*C. persicum*)
×*C. libanoticum*



品種「あけぼの」(*C. persicum*)
×*C. libanoticum*

図4 シクラメン栽培品種 (*C. persicum*) と *C. libanoticum* との種間雑種



栽培品種 (*C. persicum*)

種間雑種

C. libanoticum

図5 シクラメン栽培品種 (*C. persicum*) と *C. libanoticum* との種間雑種および交配親の染色体像

図中 bar=10 μ m

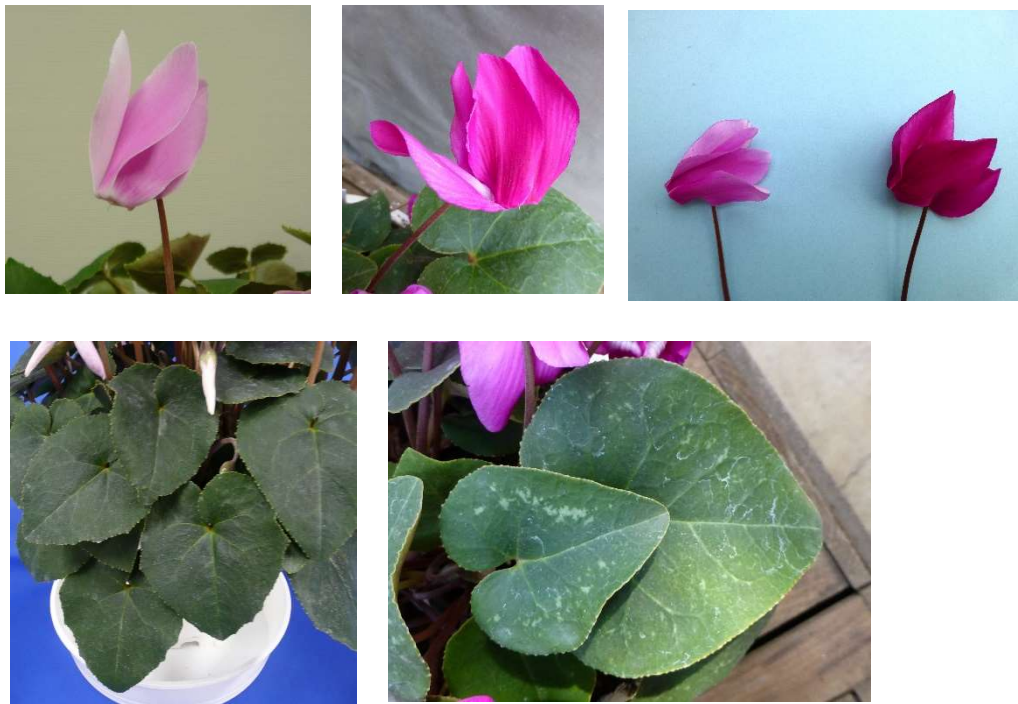


図6 シクラメン栽培品種 (*C. persicum*) と *C. libanoticum* との種間雑種の花および葉
 上段 左: 品種「ピュアホワイト」×*C. libanoticum* の花, 中: 品種「あけぼの」×*C. libanoticum* の花, 右: 両種間雑種の花の比較
 下段 左: 品種「ピュアホワイト」×*C. libanoticum* の葉, 右: 品種「あけぼの」×*C. libanoticum* の葉

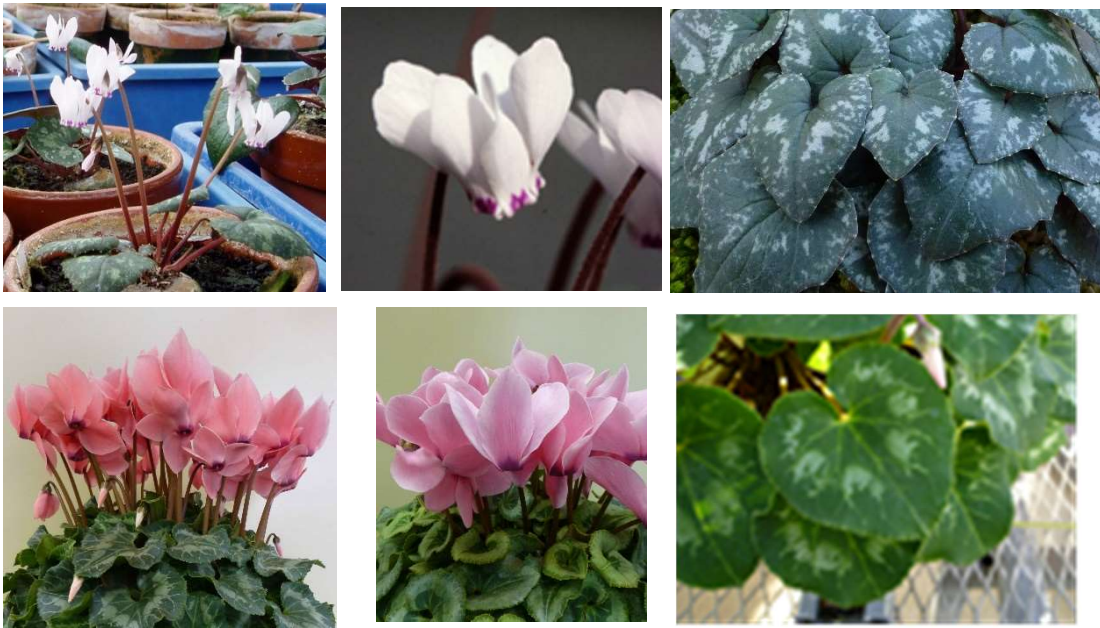


図7 交配親の花および葉

上段 花粉親 *C. cyprium*

下段 種子親 栽培品種 (*C. persicum*)

左：品種「ハイドン」 中央：品種「シューベルト」



図8 シクラメン栽培品種 (*C. persicum*) と *C. cyprium* との種間雑種



図9 シクラメン栽培品種 (*C. persicum*) と *C. cypricum* との種間雑種の花および葉
上段 左：品種「ハイドン」×*C. cypricum*, 右：品種「シューベルト」×*C. cypricum*,
下段 左, 中央：品種「ハイドン」×*C. cypricum*, 右：品種「シューベルト」×*C. cypricum*

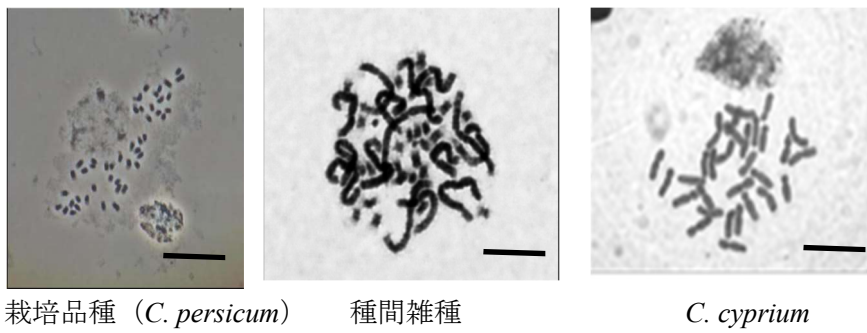


図 10 シクラメン栽培品種 (*C. persicum*) と *C. cyprium* との種間雑種および交配親の染色体像

図中 bar=10 μ m

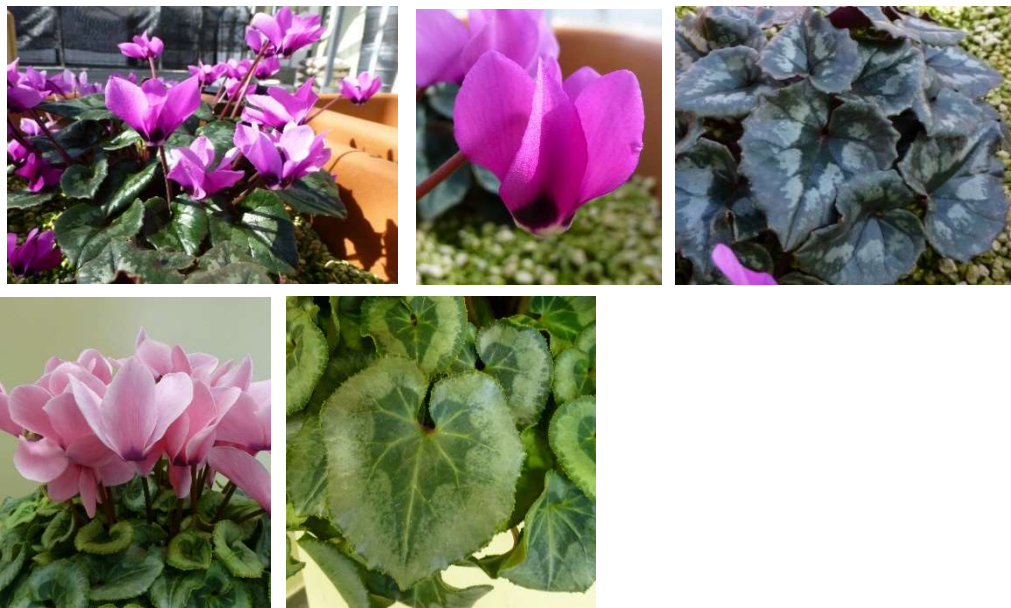


図 11 交配親の花および葉

上段 花粉親 *C. pseudibericum*

下段 種子親 栽培品種「シューベルト」(*C. persicum*)



図 12 シクラメン栽培品種 (*C. persicum*) × *C. pseudibericum* の胚珠培養により形成された球状体およびシュート



図 13 再生したシクラメン栽培品種 (*C. persicum*) と *C. pseudibericum* との種間雑種個体



図 14 シクラメン栽培品種 (*C. persicum*) と *C. pseudibericum* との種間雑種個体の根

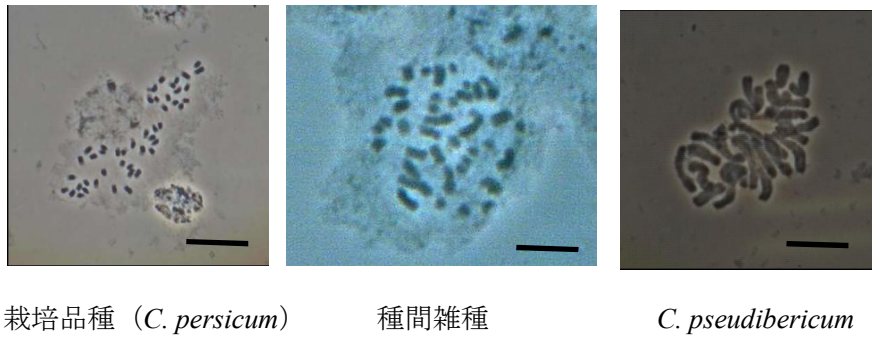
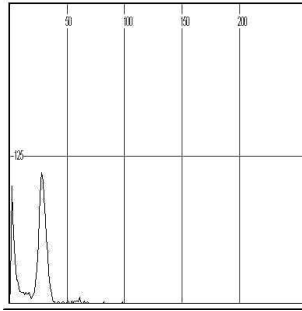
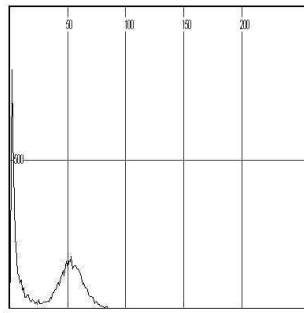


図 15 シクラメン栽培品種 (*C. persicum*) と *C. pseudibericum* との種間雑種および交配親の染色体像

図中 bar = 10 μ m



複半数体の DAPI 蛍光強度



複二倍体の DAPI 蛍光強度

図 16 シクラメン栽培品種 (*C. persicum*) と *C. libanoticum* との種間雑種の複半数体と複二倍体のフローサイト比較



複半数体個体



複二倍体個体

図 17 シクラメン栽培品種 (*C. persicum*) と *C. libanoticum* との種間雑種の倍加個体の花

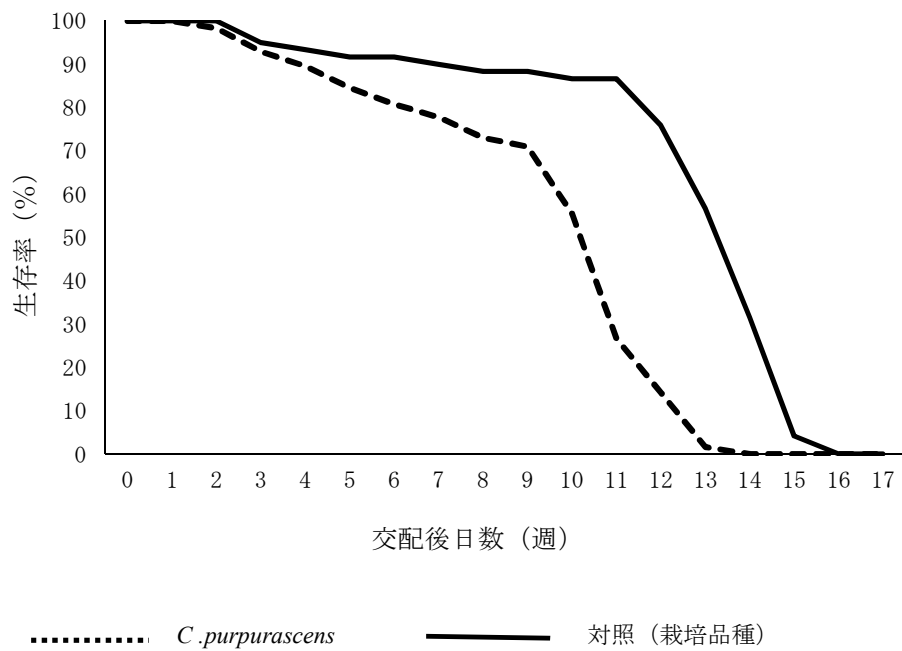


図 18 シクラメン栽培品種 (*C. persicum*) と *C. purpurascens* との種間雑種子房における生存率の推移

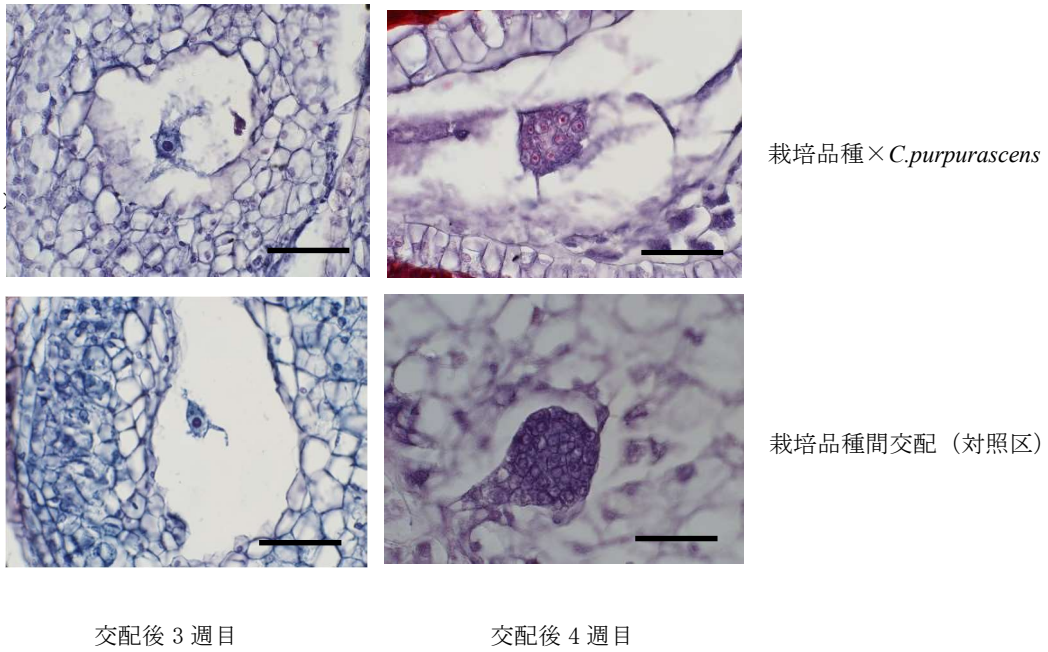
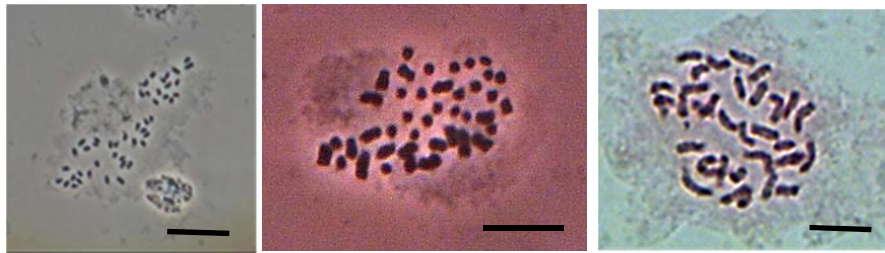
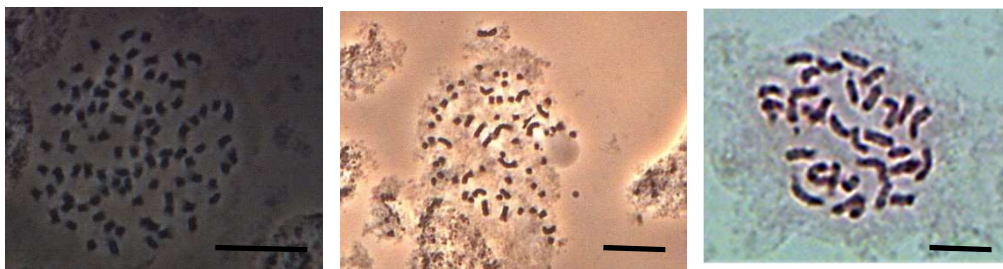


図 19 シクラメン栽培品種 (*C. persicum*) と *C.purpurascens* との種間交配後の胚発達

図中 bar=100 μm



左：二倍体栽培品種 (*C. persicum*) 中央：種間雑種 (複半数体) 右：*C. purpurascens*

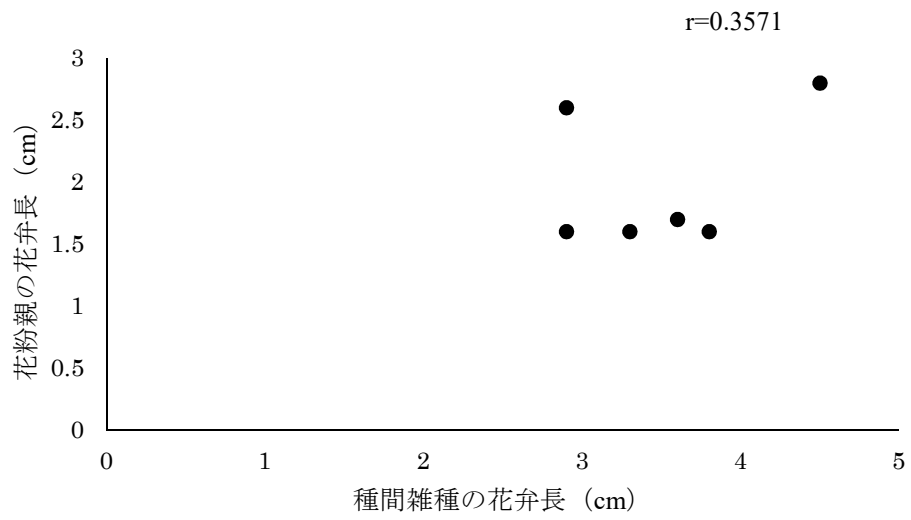


左：四倍体栽培品種 (*C. persicum*) 中央：種間雑種 (異数三倍体) 右：*C. purpurascens*

図 20 シクラメン栽培品種 (*C. persicum*) と *C. purpurascens* との種間雑種および交配親の染色体像

図中 bar = 10 μ m

(a)



(b)

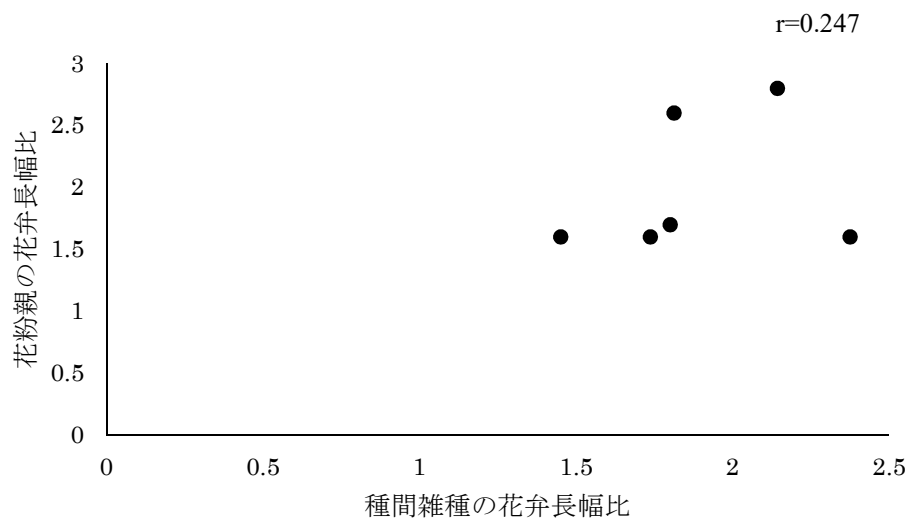


図 21 種間雑種と花粉親 (*C. purpurascens*) の花き形質の相関

(a) 種間雑種と花粉親の花弁長の相関

(b) 種間雑種と花粉親の花弁長幅比の相関

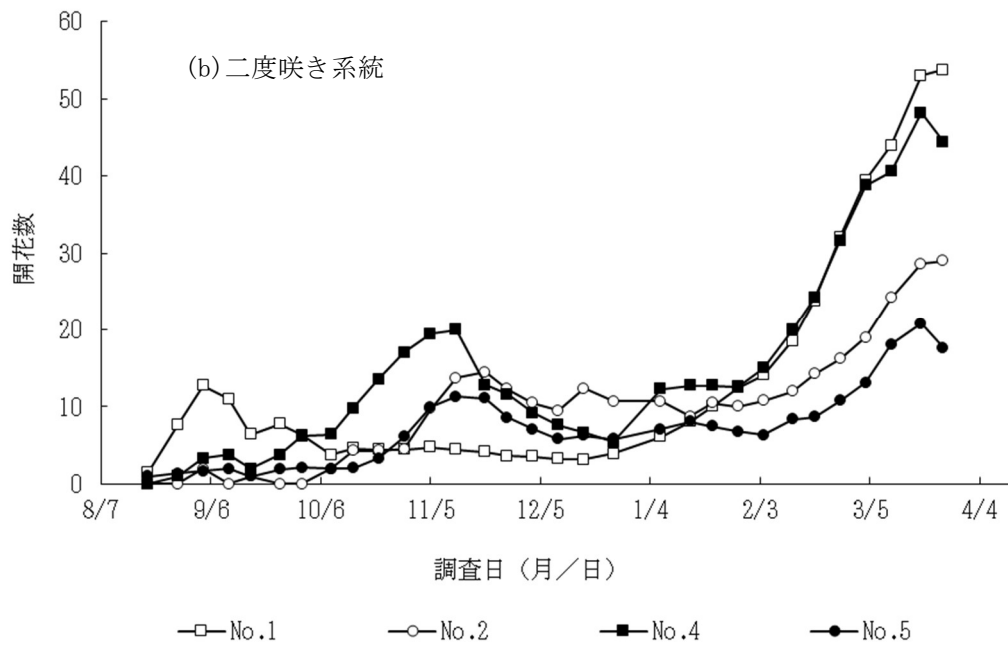
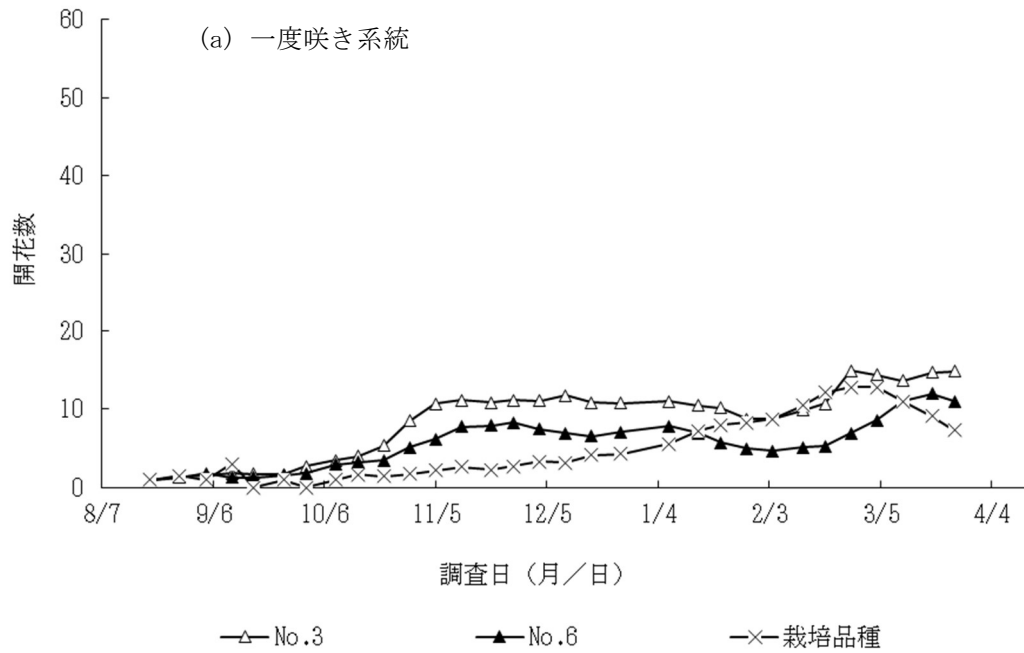


図 22 シクラメン栽培品種「シューベルト」(*C. persicum*) と *C. purpurascens* との種間雑種の開花数推移

*No. 1～No. 6 は種間雑種系統

No. 1: 「シューベルト」系統 1×*C. purpurascens* 系統 39-8 No. 2: 「シューベルト」系統 2×*C. purpurascens* 系統 40-7

No. 3: 「シューベルト」系統 3×*C. purpurascens* 系統 39-3 No. 4: 「シューベルト」系統 2×*C. purpurascens* 系統 40-7

No. 5: 「シューベルト」系統 2×*C. purpurascens* 系統 40-2 No. 6: 「シューベルト」系統 4×*C. purpurascens* 系統 40-7

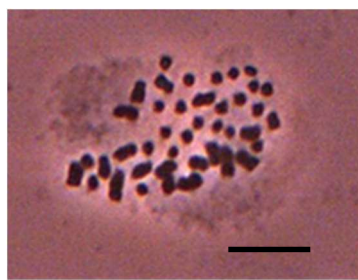


図 23 交配親および品種登録した *C. purpurascens* 種間雑種

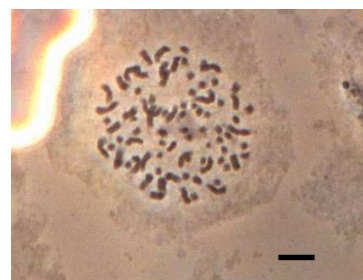
上段 種子親 (栽培品種 *C. persicum*) 左:「シューベルト」中:「あけぼの」右:「ビクトリア」

中段 花粉親 *C. purpurascens*

下段 登録品種 左:「さわや香ミディ」中:「おだや香」右:「はる香ミディ」



複半数体



複二倍体

図 24 シクラメン栽培品種 (*C. persicum*) × *C. purpurascens* の種間雑種作出により得られた複半数体と、種間雑種個体の培養により生じた複二倍体の染色体像
図中 bar = 10 μm

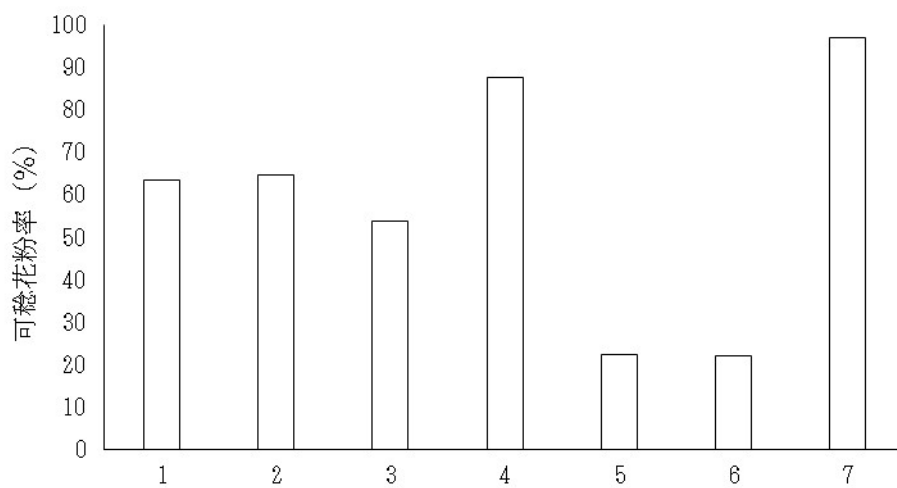
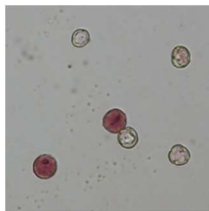
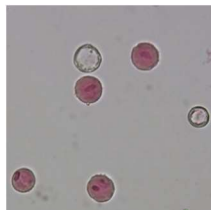


図 25 シクラメン栽培品種 (*C. persicum*) × *C. purpurascens* の種間雑種個体の培養により生じた複二倍体個体の可稔花粉率

横軸上の番号は、 1, 「さわや香ミディ」 No.1 ; 2, 「さわや香ミディ」 No.2 ;
 3, 「さわや香ミディ」 No.3 ; 4, 「さわや香ミディ」 No.4
 5, 「おだや香」 No.1 ; 6, 「おだや香」 No.2 ; 7, 「おだや香」 No.3



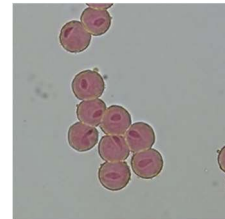
さわや香ミディ
No. 1



さわや香ミディ
No. 4



おだや香 No. 1



おだや香 No. 3

図 26 複二倍体個体の酢酸カーミンによる染色花粉

* 図中個体名は、図 25 と同じ

表 1 溶媒抽出により分離したシクラメン属近縁種の香気成分

成分	相対量 (%) ^a								
	<i>C.rep</i>	<i>C.cre</i>	<i>C.cil</i>	<i>C.alp</i>	<i>C.lib</i>	<i>C.cyp</i>	<i>C.pse</i>	<i>C.pur</i>	<i>C.per</i>
Terpenoids									
Monoterpenes									
Esters									
Linalyl acetate								0.16	
Methyl citronellate								0.96	
Methyl geranate								0.21	
Aldehydes									
Citronellal	0.35							3.40	
Geranial	0.40				0.33	1.50	1.54	2.00	3.57
Lilac aldehyde				0.34					
Neral	0.30					0.15	0.68	1.85	2.58
Alcohols									
Citronellol	1.41							39.34	4.58
Geraniol	0.04					31.12	22.83	4.60	29.26
Linalool			0.06	1.66		1.00	0.03	1.58	0.54
Menthol		0.22							
Nerol	0.48					0.18	12.86	3.71	29.30
α -Terpineol	0.43								1.31
Ethers									
1,8-Cineole	0.34								
(<i>E</i>)-Linalool-3,6-oxide				0.37			0.07		0.03
(<i>Z</i>)-Linalool-3,6-oxide				0.12					
(<i>E</i>)-Linalool-3,7-oxide				0.14					
(<i>Z</i>)-Linalool-3,7-oxide				0.11					
Hydrocarbons									
<i>p</i> -Cymene		0.86	0.27	0.55	0.51	0.25			0.13
Limonene	0.67	1.70	0.21			0.07		0.05	0.13
Myrcene	2.77					0.01		0.11	
Sabinene	0.58								
Sesquiterpenes									
Esters									
(<i>E,E</i>)-Farnesyl acetate									0.06
Ketones									
Geranylacetone	33.55	0.81	0.38	0.13	56.36	42.00	42.81	0.63	0.35
Nerylacetone						0.45	0.31		
Aldehydes									
(<i>E</i>)-2,3-Dihydrofarnesal								0.28	
(<i>Z</i>)-2,3-Dihydrofarnesal								1.57	
(<i>Z,E</i>)-Farnesal								0.01	
(<i>Z,Z</i>)-Farnesal								0.01	
(<i>E,Z</i>)-Farnesal						0.04		2.37	
(<i>E,E</i>)-Farnesal						0.33		2.40	
Alcohols									
(<i>E</i>)-2,3-Dihydrofarnesol	1.60							11.70	2.29
Elemol							2.16	0.97	
β -Eudesmol								0.73	
γ -10- <i>epi</i> -Eudesmol								0.67	
α -Eudesmol								0.01	
(<i>E,Z</i>)-Farnesol						0.68		0.94	0.13
(<i>E,E</i>)-Farnesol						5.05		1.90	1.88
(<i>Z,Z</i>)-Farnesol								0.01	
(<i>Z,E</i>)-Farnesol								0.01	
Nerolidol	0.84	3.00			5.34	0.46		0.11	
Ethers									
Caryophyllene oxide	0.20								

a) GC/MS分析による全ピークエリアに対する相対量 (%) を示した

C. rep, *C. repandum*; *C. cre*, *C. creticum*; *C. cil*, *C. cilicium*; *C. alp*, *C. alpinum*; *C. lib*, *C. libanoticum*; *C. cyp*, *C. cypricum*; *C. pse*, *C. pseudibericum*; *C. pur*, *C. purpurascens*; *C. per*, *C. persicum*

表 1 続き

成分	相対量 (%) ^a								
	<i>C.rep</i>	<i>C.cre</i>	<i>C.cil</i>	<i>C.alp</i>	<i>C.lib</i>	<i>C.cyp</i>	<i>C.pse</i>	<i>C.pur</i>	<i>C.per</i>
Hydrocarbons									
β-Bisabolene		7.35							
δ-Cadinene	0.03								
Calamenene		0.70	1.84						0.31
α-Copaene	0.30								
β-Elemene	3.41						1.32	0.10	
(<i>E</i>)-α-Farnesene									1.14
β-Funebene	0.05								
α-Humulene	4.39								0.28
Terpenoids 合計	52.14	14.64	2.76	3.42	62.54	83.29	84.61	82.39	77.87
Benzenoids									
Esters									
Benzyl acetate				0.60	0.50				0.10
Benzyl benzoate				0.48					1.23
Benzyl formate				0.08					
Benzyl tiglate							0.37		
2-Ethylhexyl benzoate									0.01
Methyl <i>p</i> -anisate									0.01
Methyl benzoate									0.10
2-Methylbutyl benzoate									0.16
3-Methyl-2-butenyl benzoate									0.31
3-Methyl-3-butenyl benzoate									0.01
Ketones									
Acetophenone		0.46				0.80			0.16
Aldehydes									
Anthranilaldehyde				0.37					
Benzaldehyde		0.15	4.87	12.00	0.28				0.10
Cinnamaldehyde									0.28
Phenylacetaldehyde			38.02	32.12					
Alcohols									
Benzyl alcohol		0.33	2.74	3.28			0.06		0.23
2-Phenylethyl alcohol			3.08	0.69					
2-Phenylpropan-2-ol									0.10
Amides									
2-Acetyl- <i>N,N</i> -dimethylaniline				0.70					
2-Acetyl- <i>N</i> -formylaniline				0.52					
2-Acetyl- <i>N</i> -methylaniline				31.33					
2-Aminoacetophenone				0.77					
Acids									
Acetaldehyde benzyl ethyl acetal			1.39	0.33					
Hydrocarbons									
1,2-Diphenylethane			0.53	0.14					
Styrene				0.57					
Other									
Anisole			0.33				0.06		
1,2-Dimethoxybenzene			0.29						
(<i>E</i>)-Isosafrole				0.32					
Benzenoids 合計	0.00	0.94	51.25	84.30	1.58	0.00	0.49	1.47	0.00

a) GC/MS分析による全ピークエリアに対する相対量 (%) を示した

C.rep : *C.reperandum* , *C.cre* : *C.creticum* , *C.cil* : *C.cilicium* , *C.alp* : *C.alpinum* , *C.lib* : *C.libanoticum* , *C.cyp* : *C.cyprium* ,
C.pse : *C.pseudibericum* , *C.pur* : *C.purpurscens* , *C.per* : *C.persicum*

表 1 続き

成分	相対量 (%) ^a								
	<i>C. rep</i>	<i>C. cre</i>	<i>C. cil</i>	<i>C. alp</i>	<i>C. lib</i>	<i>C. cyp</i>	<i>C. pse</i>	<i>C. pur</i>	<i>C. per</i>
Fatty acid derivatives									
Esters									
Butyl acetate		3.22	0.13	0.07	0.55	0.01		0.01	
Ethyl acetate								0.22	
(Z)-3-Hexenyl acetate						0.35		0.01	0.44
Isoamyl acetate								0.01	
Methyl caprate								2.50	
Methyl caprylate								0.29	
Ketones									
6,10-Dimethyl-3,5,9-undecatrien-2-one						0.51	0.65		
5,6-Epoxy-6-methyl-2-heptanone						0.06			
Heptadecan-2-one	1.64	8.01							
6-Methyl-5-hepten-2-one	0.93	0.39	0.19		1.10	2.11	0.75	0.14	1.63
Nonan-2-one					0.36				
Pentadecan-2-one	0.61								
Tridecan-2-one	10.08								
Undecan-2-one	6.63		0.27	0.15		0.21			4.26
Aldehydes									
Decanal	0.30	0.28			0.50			0.01	0.13
Dodecanal	1.00	2.04							
3-Methyl-2-butenal						0.02			
Nonanal	0.10	0.11	0.58	0.28	0.47	0.49			0.23
Tetradecanal	0.20								
Alcohols									
4,8-Dimethyl-3,7-nonadienol	0.55						0.35		
6,10-Dimethyl-5,9-undecadien-2-ol	0.84					0.33	1.11		
Dodecanol								0.42	
(Z)-3-Hexenol								0.10	
3-Methyl-2-butenol								0.17	
Tetradecanol								0.20	
Tridecanol								0.27	
2-Undecanol	0.80								
Lactones									
Decan-1,4-olide								0.01	
2-Methylbutan-1,4-olide								0.01	
Hydrocarbons									
Decane		5.38	0.21	1.04	1.88	0.04			
Dodecane			0.44	1.05	1.08	0.22	0.17	0.01	
Nonadecane								0.01	
Octadecane								0.16	
Pentadecane	0.06	0.31						0.10	
Tetradecane	0.10			0.26	0.58	0.36	0.25		0.25
Tridecane	0.85	0.45		0.59	0.73	0.25	0.10		
Undecane		3.10	0.20	0.76	0.82	0.05	0.17		
Fatty acid derivatives 合計	23.05	23.29	2.02	4.20	8.07	5.01	3.55	4.65	6.94
合計	76.83	38.87	56.03	91.92	72.19	88.30	88.65	89.84	84.81

a) GC/MS分析による全ピークエリアに対する相対量 (%) を示した

C.rep : *C.repentum* , *C.cre* : *C.creticum* , *C.cil* : *C.cilicium* , *C.alp* : *C.alpinum* , *C.lib* : *C.libanoticum* , *C.cyp* : *C.cyprium* , *C.pse* : *C.pseudibericum* , *C.pur* : *C.purpurscens* , *C.per* : *C.persicum*

表2 熱脱離法により分離したシクラメン属近縁種の香気成分

成分	相対量 (%) ^a				
	<i>C. mir</i>	<i>C. hed</i>	<i>C. afr</i>	<i>C. gra</i>	<i>C. roh</i>
Terpenoids					
Monoterpenes					
Alcohols					
Citronellol		3.00	3.92		
Geraniol		0.68	1.53		
Linalool			0.73		
Nerol		0.65			
Ethers					
(<i>E</i>)-Linalool-3,6-oxide			2.37		
(<i>Z</i>)-Linalool-3,6-oxide			0.31		
Rose oxide			1.14		
Hydrocarbons					
Camphene	0.20				
<i>p</i> -Cymene	1.48		2.12	1.74	2.46
Limonene	1.12	2.40	0.96	0.70	2.94
<i>p</i> -Mentha-1,3,8-triene			0.29		
Myrcene		0.98	0.01		
Sesquiterpenes					
Ketones					
Geranylacetone	0.55	7.21	0.76		0.53
Nerylacetone		0.87			
Hydrocarbons					
Calamenene	4.00	1.07	3.20	4.05	2.75
β -Elemene		2.35			
(<i>E</i>)- β -Farnesene		0.83			
Total terpenoids 合計	7.35	20.04	17.34	6.49	8.68
Benzenoids					
Ketones					
Acetophenone	2.59	0.89	1.51	1.24	1.71
Aldehydes					
<i>p</i> -Anisaldehyde	0.48				
Benzaldehyde	1.63	0.65	1.36	0.66	1.06
Alcohols					
Phenoxyethanol	1.25				
Other					
Anisole	0.83	6.84	12.40		2.66
1,2-Dimethoxybenzene			0.55		
1,4-Dimethoxybenzene			1.93		
Benzenoids 合計	6.78	8.38	17.75	1.90	5.43

a) GC/MS分析による全ピークエリアに対する相対量 (%) を示した

C. mir, *C. mirabile*; *C. hed*, *C. hederifolium*; *C. afr*, *C. africanum*; *C. gra*, *C. graecum*; *C. roh*, *C. rohlfianum*

表2 続き

成分	相対量 (%) ^a				
	<i>C. mir</i>	<i>C. hed</i>	<i>C. afr</i>	<i>C. gra</i>	<i>C. roh</i>
Fatty acid derivatives					
Esters					
Butyl acetate	4.02	1.40	0.52	1.33	5.26
Isoamyl acetate		0.45			
Isobutyl acetate			1.15		
(Z)-3-Hexenyl acetate		1.35	0.86		
Ketones					
2,3-Butanedione			0.58		
3-Heptanone	0.22	0.09			0.86
6-Methyl-5-hepten-2-one	0.92		8.20	1.40	1.30
Undecan-2-one				5.80	1.62
Aldehydes					
Decanal	0.68	0.50	0.79	0.31	1.44
Dodecanal	1.10				
Furfural	0.70				0.58
Hexanal	0.60		0.34	0.50	
Isopentanal	2.00			1.00	
3-Methyl-2-butenal			0.02	0.12	
Nonanal		2.52	0.90	0.67	4.03
Octanal	0.44		0.49	0.50	
Undecanal				1.07	
Alcohols					
Heptanol		0.01			
Octanol	0.70				
Acids					
Acetic acid			0.50		0.57
2-Ethylhexanoic acid					1.07
Lactones					
Octan-1,4-olide	1.83				
Hydrocarbons					
Decane	3.00	5.30			5.78
Dodecane	1.95	1.90		1.03	
Hexadecane	1.13	0.58			
Nonane	0.80	2.40	1.28	1.52	1.39
Octane	1.20		0.48	1.50	3.51
Pentadecane	1.32			0.77	0.55
Tetradecane	1.31	1.77		1.50	1.82
Tridecane	1.13			0.89	4.30
Undecane	1.78	2.90	1.48	1.30	1.33
Fatty acid derivatives 合計	26.83	21.17	17.59	21.21	35.41
合計	40.96	49.59	52.68	29.60	49.52

a) GC/MS分析による全ピークエリアに対する相対量 (%) を示した

C. mir, *C. mirabile*; *C. hed*, *C. hederifolium*; *C. afr*, *C. africanum*; *C. gra*, *C. graecum*; *C. roh*, *C. rohlfsianum*

表3 栽培品種の香気成分

成分	相対量 (%) ^{a)}					
	芳香性が認められた品種			芳香性がない品種		
	ミニシクラメン	ほのか	ビクトリア	シューベルト	ピュアホワイト	ペートーベン
Terpenoids						
Monoterpenes						
Esters						
Methyl geranate	0.51	0.13	0.18			
Aldehydes						
Citronellal	0.03		0.04			
Geranial	2.04	2.71	2.78			
Neral	1.27	2.26	2.34			
Alcohols						
Citronellol	3.30	4.69	4.63			
Geraniol	50.45	28.10	30.53			
Linalool	0.56	0.14	0.03			0.25
Nerol	26.32	34.03	45.52			
α -Terpineol	0.86	0.26	0.26	3.59	0.12	0.42
Ethers						
Nerol-1,5-oxide	0.16		0.07			
Nerol-6,7-oxide		0.13	0.15			
Nerol-2,3-oxide		0.07	0.16			
Geraniol-6,7-oxide		0.13				
Geraniol-2,3-oxide		0.10				
Hydrocarbone						
p-Cymene	0.11				0.50	0.29
Limonene	0.07		0.03	1.19	1.19	1.62
Myrcene	0.08		0.03	0.68	0.58	1.08
Sesquiterpenes						
Ketones						
Geranylacetone	0.26	0.26	0.18	0.30		
Aldehydes						
(E)-2,3-Dihydrofarnesal			0.05			
(E,Z)-Farnesal		0.07	0.08			
(E,E)-Farnesal	0.28	0.12	0.12			
Alcohols						
(E)-2,3-Dihydrofarnesol	0.75	2.22	2.79			
(E,Z)-Farnesol	0.43	0.11	0.22			
(E,E)-Farnesol	1.35	2.13	2.00			
Nerolidol			0.02			
Hydrocarbone						
Caryophyllene	0.12	0.16		36.89		11.46
β -Elemene				6.20	5.33	10.62
(E)- β -Farnesene						0.58
α -Humulene				4.91	0.57	1.69
Benzenoids						
Aldehydes						
Benzaldehyde						2.05
other						
Anisole	0.12		0.04			
Fatty acid derivatives						
Esters						
Butyl acetate		0.15			0.15	
(Z)-3-Hexenyl acetate	0.30	0.11				
Ketones						
6-Methyl-5-hepten-2-one	2.74	2.26	1.14	0.64		0.49
Nonan-2-one	0.13	0.21				
Undecan-2-one	0.40	2.50	0.92	6.30	4.47	2.56
Aldehydes						
3-Methyl-2-butenal	0.17					
Hydrocarbons						
Decane	0.16					
Dodecane	0.07			0.63		0.52
Tridecane		0.14		0.50		1.76
Undecane	0.15		0.02		0.62	1.42

a) GC/MS分析による全ピークエリアに対する相対量 (%) を示した

表4 *C. purpurascens* の香気成分相対量

成分	相対量 (%) ^{a)}								
	系統13-1	系統39-3	系統39-5	系統39-8	系統40-1	系統40-2	系統40-3	系統40-7	系統40-8
Terpenoids									
Monoterpenes									
Esters									
Linalyl acetate	0.16								
Methyl citronellate	0.96	0.77	1.50	0.71	2.06	0.95	1.41	1.88	1.03
Methyl geranate	0.21	0.07	0.27	0.12					
Aldehydes									
Citronellal	3.40	0.77	3.66	1.48	3.09	1.07	0.93	1.76	1.60
Geranial	2.00	2.52	1.24	3.93	0.99	0.49	2.96	1.71	2.40
Neral	1.85	2.36	0.56	4.41	0.32		2.12	0.87	2.10
Alcohols									
Citronellol	39.34	29.21	30.60	21.06	46.81	24.16	12.04	20.08	39.58
Geraniol	4.60	2.10	5.90	4.11	1.09	0.68	8.37	5.28	2.97
Linalool	1.58	2.30	2.15	0.55	0.58	0.78	1.37	2.61	0.88
Nerol	3.71	7.56	2.08	8.28	0.95	0.68	4.49	1.93	2.97
Ethers									
Rose oxide		0.12	0.03		0.15	0.64			0.13
Hydrocarbones									
p-Cymene		0.11	0.28		0.08		0.24	0.31	
Limonene	0.05	0.15	0.21		0.12	0.13	0.21	0.29	0.03
Myrcene	0.11								
Sesquiterpenes									
Ketones									
Geranylacetone	0.63	1.50	1.20	1.54	0.89	0.40	0.90	0.89	1.46
Aldehydes									
(Z)-2,3-Dihydrofarnesal	1.57								
(E)-2,3-Dihydrofarnesal	0.28	1.27	2.32	2.02	2.43	2.72	0.58	2.33	2.58
(Z,E)-Farnesal	0.01								
(E,Z)-Farnesal	2.37	3.10	1.80	5.88	1.00	0.73	1.10	0.64	3.93
(Z,Z)-Farnesal	0.01								
(E,E)-Farnesal	2.40	3.61	2.39	5.60	0.91	0.69	1.64	0.98	4.14
Alcohols									
(E)-2,3-Dihydrofarnesol	11.70	10.84	6.60	7.37	12.15	17.69	2.26	7.05	9.07
Elemol	0.97	1.66	1.35	0.80	1.58	0.52			
α-Eudesmol	0.01				0.49				
β-Eudesmol	0.73	0.80	0.20	0.30	0.48	0.40	0.12	0.40	0.31
γ-10-epi-Eudesmol	0.67								
(Z,E)-Farnesol	0.01								
(E,Z)-Farnesol	0.94	3.07	2.57	1.47	0.59	1.88	2.24	1.48	1.34
(Z,Z)-Farnesol	0.01								
(E,E)-Farnesol	1.90	2.74	6.91	1.62	1.00	1.72	8.81	7.93	3.07
Nerolidol	0.11	0.24	0.28			0.50	0.15	0.22	
Hydrocarbones									
β-Elemene	0.10	0.79	0.41		1.26				

a) GC/MS分析による全ピークエリアに対する相対量 (%) を示した

表4 続き

成分	相対量 (%) ^a								
	系統13-1	系統39-3	系統39-5	系統39-8	系統40-1	系統40-2	系統40-3	系統40-7	系統40-8
Benzenoids									
Esters									
Benzyl acetate	0.10								
Benzyl benzoate	1.23	3.02	0.75	0.12	0.24	1.62	3.95	0.67	0.55
Benzyl tiglate		0.29							
Methyl p-anisate	0.01		0.02		0.07	0.38	0.35	0.19	
Methyl benzoate	0.10	0.21	0.12		0.12		0.50		0.24
Aldehydes									
Benzaldehyde		0.16				0.20	0.42	0.17	
Alcohols									
Benzyl alcohol	0.23	0.40	0.06		0.05		0.10		
2-Phenylpropan-2-ol	0.10				0.28				
other									
Anisole		0.20	0.16		0.12				
Fatty acid derivatives									
Esters									
Butyl acetate	0.01						0.05		
Ethyl acetate	0.22								
(Z)-3-Hexenyl acetate	0.01	0.38	1.18	0.43	1.25			0.25	0.25
Isoamyl acetate	0.01								
Methyl caprate	2.50	1.16	1.97	0.23	1.17	1.38	2.60	1.13	1.97
Methyl caprylate	0.29	0.20	0.60		0.12		0.35		0.25
Ketones									
6-Methyl-5-hepten-2-one	0.14	1.15	1.58	0.93	1.73				
Aldehydes									
Decanal	0.01		0.10	0.30	0.06				
Dodecanal									
3-Methyl-2-butenal				0.09	0.09	0.19			0.10
Nonanal			0.03	0.24					
Alcohols									
4,8-Dimethyl-3,7-nonadienol			0.26	0.48	0.31				0.16
Dodecanol	0.42								
(Z)-3-Hexenol	0.10								
3-Methyl-2-butenol	0.17				0.08				
Tetradecanol	0.20								
Tridecanol	0.27								
Lactones									
Decan-1,4-olide	0.01						0.38	0.34	
2-Methylbutan-1,4-olide	0.01								
Hydrocarbons									
Dodecane	0.01			0.12		0.44	0.66	1.30	0.11
Nonadecane	0.01								
Octadecane	0.16								
Pentadecane	0.10		0.21	0.82		0.32	0.49		
Tetradecane			0.02	0.22		0.55	0.84		0.06
Tridecane				0.18		0.60	0.80	0.60	
Undecane		0.18		0.07		0.45	0.68	0.52	0.03

a) GC/MS分析による全ピークエリアに対する相対量 (%) を示した

表5 シクラメン栽培品種と *C. libanoticum*, *C. cyprium*, *C. pseudibericum* との種間交配後の莢の肥大と未熟種子形成数

花粉親	交配後週数 (週)	軟化した花梗数		種子形成 莢数	形成種子数 (B) (うち完熟種子数)	肥大した莢あたり の種子数 (B/A)	
		莢肥大 (A)	莢肥大 なし				
<i>C. libanoticum</i>	~6	0	13				
	7	0	1				
	8	1	0	1	2(0)	2.0	
	9	3	0	3	21(0)	7.0	
	10	5	0	5	51(0)	10.2	
	11	4	0	4	16(0)	4.0	
	12	5	0	5	61(0)	12.2	
	13	6	0	6	52(0)	8.7	
	14	6	0	6	78(0)	13.0	
	15	3	0	3	64(0)	21.3	
	16	7	0	7	168(0)	24.0	
	17	4	0	4	93(0)	23.3	
	<i>C. cyprium</i>	~6	0	25			
		7	3	1	3	3(0)	1.0
		8	9	2	9	30(0)	3.3
		9	7	1	7	26(0)	3.7
		10	2	0	2	5(0)	2.5
11		3	0	3	16(0)	5.3	
12		1	0	1	13(0)	13.0	
13		2	0	2	49(0)	24.5	
14		2	0	2	56(0)	28.0	
15		2	0	2	29(0)	14.5	
16		0	0	0			
17		0	0	0			
<i>C. pseudibericum</i>		~6	0	21			
		7	4	6	4	7(0)	1.8
		8	6	0	6	16(0)	2.7
		9	5	0	5	23(0)	4.6
		10	4	0	4	28(0)	7.0
	11	1	0	1	6(0)	6.0	
	12	4	0	4	42(0)	10.5	
	13	2	0	2	23(0)	11.5	
	14	1	0	1	3(0)	3.0	
	15	1	0	1	13(0)	13.0	
	16	3	0	3	48(0)	16.0	
	17	1	0	1	30(0)	30.0	
	対照区 (栽培品種)	~6	0	5			
		7	2	0	2	8(0)	4.0
		8	0	0	0		
		9	0	0	0		
		10	1	0	1	4(0)	4.0
11		0	0	0			
12		6	0	6	199(199)	33.2	
13		12	0	12	781(781)	65.1	
14		17	0	17	607(607)	35.7	
15		12	0	12	309(309)	25.8	
16		2	0	2	163(163)	81.5	
17		0	0	0			

表6 シクラメン栽培品種 (*C. persicum*) と *C. libanoticum*, *C. cyprium*, *C. pseudibericum* との種間交配後週数と胚珠培養による再生率

花粉親	交配後週数 (週)	培養胚珠数	再生数		再生率 (%)
			シュート形成 胚珠数	不定胚形成 胚珠数	
<i>C. libanoticum</i>	3	86	12	0	14.0
	4	80	5	0	6.3
<i>C. cyprium</i>	3	81	7	0	8.6
	4	75	0	0	0.0
<i>C. pseudibericum</i>	3	96	0	3	3.1
	4	85	0	0	0.0

表7 シクラメン栽培品種 (*C. persicum*) と *C. libanoticum* との種間雑種系統および交配親の花き形質

供試系統	花弁の大きさ			花弁色			開花期間 (開花盛期)
	花弁長 (cm±SD)	花弁幅 (cm±SD)	長幅比	花弁表 色名 (V,C,H)*	花弁裏 色名 (V,C,H)*	花口部 色名 (V,C,H)*	
「ピュアホワイト」 × <i>C. libanoticum</i>	4.6±0.32	2.4±0.16	2.0	strong purplish pink (6, 12, 5, 2RP92)	purplish pink (8, 6, 2RP92)	strong purplish pink (6, 12, 5, 2RP92)	11月～6月 (1月下～3月上)
「あけぼの」 × <i>C. libanoticum</i>	4.3±0.37	2.5±0.17	1.7	vivid red purple (4, 14, 2RP92)	bright red purple (5, 14, 2RP92)	vivid red purple (4, 14, 2RP92)	11月～6月 (2月上～3月上)
<i>C. libanoticum</i>	2.5±0.18	1.3±0.10	1.9	pale purplish pink (8, 5, 4, 2RP92)	pale purplish pink (8, 5, 4, 2RP92)	vivid red purple (4, 14, 2RP92)	2月～3月 (2月)
「ピュアホワイト」	5.4±0.36	3.8±0.43	1.4	yellowish white (9, 0, 5Y25)	yellowish white (9, 0, 5Y25)	yellowish white (9, 0, 5Y25)	10月～4月 (12月～2月)
「あけぼの」	5.6±0.13	4.1±0.08	1.4	bright red purple (5, 14, 2RP92)	bright red purple (5, 14, 2RP92)	vivid red purple (4, 14, 2RP92)	10月～4月 (12月～2月)

*V, Value C: Chroma H: Hue

表 8 シクラメン栽培品種 (*C. persicum*) と *C. libanoticum* との種間雑種系統および交配親の葉の形質

供試系統	葉の大きさ			斑	葉色		葉の形
	葉長 (cm±SD)	葉幅 (cm±SD)	長幅比		葉色	斑色	
「ピュアホワイト」 × <i>C. libanoticum</i>	10.1±1.06	8.8±1.12	1.1	無	dk.green (3, 4, 10GY40)	斑色 色名 (V,C,H)* 色名 (V,C,H)*	心臟型
「あけぼの」 × <i>C. libanoticum</i>	8.7±1.26	8.0±1.48	1.1	不明慮	dk.green (3.5, 3, 7GY37)	dull green (5, 6, 7GY37)	心臟型
<i>C. libanoticum</i>	4.9±0.74	5.1±0.44	1.0	明瞭	dk.green (3, 4, 10GY40)	pale yellow green (8.5, 3, 5GY35)	円形
「ピュアホワイト」	8.5±1.07	7.7±0.76	1.1	明瞭	dk.green (3, 4, 10GY40)	pale green (8.5, 2, 10GY40)	心臟型
「あけぼの」	9.3±0.45	8.3±0.25	1.1	明瞭	dull bluish green (4, 5, 9G49)	lt-graysh green (7, 2, 3G43)	心臟型

*V, Value C:Chroma H;Hue

表9 シクラメン栽培品種 (*C. persicum*) と *C. libanoticum* との種間雑種系統の香気成分

成分	相対量 (%) ^a	成分量 (μg) ^b
Myrcene	3.64	1.86
Limonene	2.21	0.67
α-Terpineol	13.84	7.76
Undecan-2-one	1.87	0.78
Caryophyllene	2.31	0.74
Geranylacetone	3.00	1.21
(<i>E</i>)-β-Farnesene	1.10	0.33
(<i>E</i>)-α-Farnesene	16.87	9.09

a) GC/MS分析による全ピークエリアに対する相対量 (%) を示した

b) 一花当たりの成分量

表 10 シクラメン栽培品種 (*C. persicum*) と *C. cyprium* との種間雑種系統および交配親の花き形質

供試系統	花弁の大きさ			花弁色			開花期間 (開花盛期)
	花弁長 (cm±SD)	花弁幅 (cm±SD)	長幅比	花弁表 色名 (V,C,H)*	花弁裏 色名 (V,C,H)*	花口部 色名 (V,C,H)*	
「ハイドン」 × <i>C. cyprium</i>	4.0±0.20	1.9±0.13	2.1	strong purplish pink (7, 10, 2RP92)	pale purplish pink (8, 5, 2RP92)	bright red purple (5, 14, 2RP92)	11月～6月 (2月上～3月上)
「シュューベルト」 × <i>C. cyprium</i>	3.8±0.08	1.8±0.08	2.1	purplish pink (8, 6, 2RP92)	pale purplish pink (8, 5, 2RP92)	vivid red purple (4, 14, 2RP92)	11月～6月 (2月上～3月上)
<i>C. cyprium</i>	2.1±0.22	0.6±0.09	3.5	pinkish white (9, 1, 2RP92)	pinkish white (9, 1, 2RP92)	vivid red purple (7, 9, 5RP95)	8月～12月 (11月)
「ハイドン」	5.1±0.25	3.9±0.19	1.3	strong purplish pink (6, 12, 7RP97)	strong purplish pink (7, 9, 7RP97)	vivid purplish red (4, 15, 7RP97)	10月～4月 (12月～2月)
「シュューベルト」	5.5±0.17	3.8±0.15	1.4	strong purplish pink (6, 12, 5, 2RP92)	strong purplish pink (7, 10, 2RP92)	vivid reddish purple (3, 5, 14, 9P89)	10月～4月 (12月～2月)

*V, Value C; Chroma H; Hue

表 11 シクラメン栽培品種 (*C. persicum*) と *C. cyprium* との種間雑種系統および交配親の葉の形質

供試系統	葉の大きさ			斑	葉色			葉の形
	葉長 (cm±SD)	葉幅 (cm±SD)	長幅比		葉色 色名 (V,C,H)*	斑色 色名 (V,C,H)*	葉色 色名 (V,C,H)*	
「ハイドン」 × <i>C. cyprium</i>	9.3±1.47	7.4±1.26	1.3	無または 明瞭	dk.green (3, 4, 10GY40)	lt.yellowish green (8, 6, 7GY37)	心臟型	
「シューーベルト」 × <i>C. cyprium</i>	5.6±1.75	5.5±1.75	1.0	明瞭	dull bluish green (4, 5, 9G49)	lt.grayish green (7, 2, 9G49)	心臟型	
<i>C. cyprium</i>	4.4±0.63	4.2±0.93	1.1	明瞭	dk.green (3, 4, 10GY40)	greenish white (9, 1, 5GY35)	心臟型	
「ハイドン」	7.7±0.30	7.5±0.36	1.0	明瞭	dk.green (3.5, 6, 7GY37)	lt.grayish green (7, 2, 10GY40)	心臟型	
「シューーベルト」	8.2±0.38	7.5±0.48	1.1	明瞭	dk.green (3.5, 6, 7GY37)	lt.grayish green (7, 2, 3G43)	心臟型	

*V, Value C:Chroma H;Hue

表 12 シクラメン栽培品種 (*C. persicum*) と *C. cyprium* との種間雑種系統の香気成分

成分	相対量 (%) ^a	成分量 (μg) ^b
Myrcene	1.78	1.51
Limonene	1.81	0.74
Linalool	1.41	1.09
α-Terpineol	9.95	10.32
Undecan-2-one	0.64	0.55
Caryophyllene	0.95	0.59
Geranylacetone	13.72	16.62

a) GC/MS分析による全ピークエリアに対する相対量 (%) を示した

b) 一花当たりの成分量

表 13 シクラメン栽培品種 (*C. persicum*) と *C. pseudibericum* との種間雑種および交配親の葉の形質

供試系統	葉の大きさ			斑	葉色		葉の形
	葉長 (cm±SD)	葉幅 (cm±SD)	長幅比		葉色	斑色	
「シユューベルト」 × <i>C. pseudibericum</i>	1.4±0.14	1.3±0.12	1.1	無	葉色 色名 (V,C,H)*	斑色 色名 (V,C,H)*	心臟型 (辺縁部鋸歯状)
<i>C. pseudibericum</i>	6.3±0.99	5.2±0.90	1.2	明瞭	dk.green (2.5, 4, 7GY37)	pale yellowish green (8.5, 3, 7GY37)	心臟型 (辺縁部鋸歯状)
「シユューベルト」	8.2±0.38	7.5±0.48	1.1	明瞭	dk.green (3.5, 6, 7GY37)	lt.grayish green (7, 2, 3G43)	心臟型

*V, Value C; Chroma H; Hue

表 14 葯を用いた培養による種間雑種の増殖

供試系統	置床葯数 (A)	カルス形成 葯数(B)	B/A×100 (%)	不定胚形成 葯数(C)	C/A×100 (%)	シュート形成 葯数(D)	D/A×100 (%)
「ピュアホワイト」 × <i>C. libanoticum</i>	60	58	96.7	50	83.3	55	91.7
「ハイドン」 × <i>C. cyprium</i> 系統1	64	32	50.0	8	12.5	0	0.0
「ハイドン」 × <i>C. cyprium</i> 系統2	56	21	37.5	6	10.7	0	0.0

表 15 シクラメン栽培品種 (*C. persicum*) と *C. libanoticum* との種間雑種から培養により生じた embryogenic カルスへのコルヒチン処理の影響

(a) シュート再生数に及ぼす影響

コルヒチン処理条件		シュート再生数 (個)
処理濃度 (mg/L)	処理日数 (日)	
0	0	583
50	5	168
50	15	103
100	5	102
100	15	54
200	5	44
200	15	5

(b) 再生したシュートの倍数性に及ぼす影響

コルヒチン処理条件		供試個体数 (個) (A)	個体数 (個) (B)		倍加率 (%) B/A × 100
処理濃度 (mg/L)	処理日数 (日)		複半数体	複二倍体	
0	0	20	20	0	0
50	5	20	19	1	5
50	15	20	19	1	5
100	5	20	18	2	10
100	15	20	16	4	20
200	5	20	14	6	30
200	15	20	12	8	40

(c) 推定される倍加個体数

コルヒチン処理条件		シュート再生数 × 倍加率 (個)
処理濃度 (mg/L)	処理日数 (日)	
0	0	0
50	5	8
50	15	5
100	5	10
100	15	11
200	5	13
200	15	2

表 16 シクラメン栽培品種 (*C. persicum*) と *C. libanoticum* との種間雑種から得られた複二倍体系統の形質

系統	花き形質			葉形質			可稔花粉率 (% ± SD)
	花弁長 (cm ± SD)	花弁幅 (cm ± SD)	長幅比	花弁数	葉長 (cm ± SD)	葉幅 (cm ± SD)	
複二倍体系統							
No. 1	5.5 ± 0.35	3.3 ± 0.28	1.5	5~7	8.0 ± 2.14	7.4 ± 1.88	2.6 ± 0.33
No. 2	4.3 ± 0.70	2.8 ± 1.51	1.6	5	8.7 ± 2.77	8.1 ± 2.47	2.8 ± 0.98
No. 3	5.2 ± 0.49	3.1 ± 0.20	1.7	5	9.8 ± 2.19	9.3 ± 1.33	4.4 ± 1.20
No. 4	5.2 ± 0.50	3.1 ± 0.35	1.7	5	7.4 ± 2.46	6.9 ± 1.86	7.9 ± 3.07
No. 5	5.1 ± 0.49	3.1 ± 0.48	1.7	5~6	7.3 ± 2.55	7.0 ± 2.56	3.0 ± 1.05
No. 6	4.8 ± 0.72	3.0 ± 0.33	1.6	5~7	8.6 ± 1.70	7.6 ± 1.38	1.5 ± 0.34
No. 7	3.7 ± 0.77	2.6 ± 0.43	1.4	5~6	7.7 ± 1.86	7.4 ± 1.97	3.3 ± 1.74
No. 8	4.2 ± 0.69	2.7 ± 0.26	1.6	5~6	6.6 ± 2.25	6.3 ± 1.88	6.9 ± 2.54
No. 9	4.5 ± 0.60	2.9 ± 0.30	1.6	5	7.4 ± 2.01	7.2 ± 1.09	4.0 ± 0.87
複半数体系統	4.6 ± 0.30	2.4 ± 0.20	2.0	5	10.1 ± 1.06	8.8 ± 1.12	1.8 ± 1.41

表 17 シクラメン栽培品種 (*C. persicum*) と *C. purpurascens* との種間交配後の莢の肥大と未熟種子形成数

花粉親	交配後週 数 (週)	軟化した花梗数		種子形成 莢数	形成種子数 (完熟種子数) (B)	肥大した莢あ たりの種子数 (B/A)
		莢肥大 (A)	莢肥大 なし			
<i>C. purpurascens</i>	~6	0	11			
	7	0	2			
	8	0	3			
	9	1	0	1	17(0)	17.0
	10	9	0	9	102(0)	11.3
	11	6	0	6	132(0)	22.0
	12	10	0	10	184(0)	18.4
	13	7	0	7	265(0)	37.9
	14	1	0	1	72(0)	72.0
	15	0	0	0		
	16	0	0	0		
	17	0	0	0		
	対照区 (栽培品種)	~6	0	5		
7		2	0	2	8(0)	4.0
8		0	0	0		
9		0	0	0		
10		1	0	1	4(0)	4.0
11		0	0	0		
12		6	0	6	199(199)	33.2
13		12	0	12	781(781)	65.1
14		17	0	17	607(607)	35.8
15		12	0	12	309(309)	25.8
16		2	0	2	163(163)	81.5
17	0	0	0			

表 18 シクラメン栽培品種 (*C. persicum*) と *C. purpurascens* との種間交配後週数と胚珠培養による再生率

交配後週数 (週)	培養胚珠数	シュート形成 胚珠数	再生率 (%)
3	56	10	17.9
4	77	32	41.6
5	75	18	24.0

表 19 *C. purprascens* の花き形質

供試系統	花弁長 (cm±SD)	花弁幅 (cm±SD)	花弁長幅比	開花期間
系統39-3	2.8±0.22	1.0±0.09	2.8	6~8月
系統39-5	2.5±0.39	1.0±0.12	2.5	5~8月
系統39-8	2.6±0.19	1.0±0.04	2.6	4~8月、12~2月
系統40-1	2.3±0.18	1.3±0.26	1.8	4~10月
系統40-2	1.7±0.29	1.0±0.26	1.7	6~9月
系統40-3	1.6±0.24	0.7±0.10	2.3	5~7月、10~1月
系統40-7	1.6±0.24	1.0±0.18	1.6	6~8月
系統40-8	1.5±0.23	0.9±0.15	1.7	4~10月

表 20 *C. purpurascens* を用いた種間雑種系統の花きおよび葉の形質

供試系統	花弁長 (cm ± SD)	花弁幅 (cm ± SD)	花茎径 (mm ± SD)	花茎長 (cm ± SD)	葉長 (cm ± SD)	葉幅 (cm ± SD)	葉厚 (mm ± SD)	葉柄径 (mm ± SD)	葉柄長 (cm ± SD)
種間雑種No. 1	2.9 ± 0.22	1.6 ± 0.29	2.3 ± 0.44	14.1 ± 2.34	6.7 ± 0.63	6.5 ± 0.53	0.4 ± 0.07	2.2 ± 0.37	7.3 ± 1.00
種間雑種No. 2	2.9 ± 0.10	2.0 ± 0.31	2.4 ± 0.23	14.6 ± 1.40	7.2 ± 0.66	7.8 ± 0.76	0.4 ± 0.05	2.6 ± 0.41	10.6 ± 0.49
種間雑種No. 3	4.5 ± 0.24	2.1 ± 0.22	3.0 ± 0.53	15.4 ± 1.13	8.9 ± 0.78	8.2 ± 0.67	0.5 ± 0.07	3.3 ± 0.33	9.0 ± 0.90
種間雑種No. 4	3.8 ± 0.17	1.6 ± 0.18	2.1 ± 0.24	16.3 ± 1.00	7.3 ± 0.51	7.2 ± 0.69	0.4 ± 0.05	2.5 ± 0.21	9.8 ± 0.77
種間雑種No. 5	3.6 ± 0.26	2.0 ± 0.12	2.4 ± 0.19	15.5 ± 2.20	6.6 ± 0.55	7.2 ± 0.72	0.4 ± 0.05	2.5 ± 0.30	8.4 ± 1.00
種間雑種No. 6	3.3 ± 0.24	1.9 ± 0.17	2.6 ± 0.42	13.4 ± 2.43	8.0 ± 1.01	7.3 ± 0.80	0.4 ± 0.05	2.8 ± 0.49	8.5 ± 1.12
栽培品種	4.6 ± 0.39	4.3 ± 0.19	4.7 ± 0.59	13.3 ± 2.24	10.4 ± 0.92	9.6 ± 0.77	0.6 ± 0.06	4.7 ± 0.32	7.1 ± 1.16
<i>C. purpurascens</i>	2.1 ± 0.66	1.3 ± 0.20	1.8 ± 0.15	10.5 ± 2.61	6.0 ± 0.39	6.0 ± 0.32	0.38 ± 0.04	1.61 ± 0.23	7.0 ± 1.12

種間雑種 No. 1: 「シュューベルト」系統 1 × *C. purpurascens* 系統 39—8, 種間雑種 No. 2: 「シュューベルト」系統 2 × *C. purpurascens* 系統 40—7, 種間雑種 No. 3: 「シュューベルト」系統 3 × *C. purpurascens* 系統 39—3, 種間雑種 No. 4: 「シュューベルト」系統 2 × *C. purpurascens* 系統 40—7, 種間雑種 No. 5: 「シュューベルト」系統 2 × *C. purpurascens* 系統 40—2, 種間雑種 No. 6: 「シュューベルト」系統 4 × *C. purpurascens* 系統 40—7

表 21

栽培品種「あけぼの」(*C. persicum*) と *C. purpurascens* 系統 40-3 との種間雑種及び交配親の香気成分

成分	相対量 (%) ^{a)}							
	種子親	花粉親	種間雑種系統					
	栽培品種 「あけぼの」	<i>C. purpurascens</i> 系統40-3	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6
Floral								
Linalool	0.06	1.37	0.98	2.64	0.89	0.58	0.89	1.44
Citronellal		0.93	0.32	0.25	0.24			
Citronellol		12.04	17.71	18.09	11.53	6.64	9.12	6.74
Geranial		2.96	1.42	1.62	1.20	1.53	1.40	1.56
Geraniol	0.44	8.37	10.34	5.62	13.90	4.20	7.02	9.70
Neral	0.97	2.12	1.05	1.93	0.90	0.89	0.78	0.78
Nerol	0.04	4.49	7.03	23.21	12.28	2.17	4.70	5.82
Methyl citronellate		1.41	0.57	0.40	0.28			
(<i>E,Z</i>)-Farnesal		1.10				0.92	1.32	1.01
(<i>E,E</i>)-Farnesal		1.64		0.36	0.20		0.54	
(<i>E,Z</i>)-Farnesol		2.24	1.26	0.85	1.54	0.38	0.50	0.67
(<i>E,E</i>)-Farnesol		8.81	6.18	2.58	6.00	1.72	2.02	2.78
(<i>E</i>)-2,3-Dihydrofarnesal		0.58	0.51	0.84	0.52			0.65
(<i>E</i>)-2,3-Dihydrofarnesol		2.26	7.66	15.37	5.54	2.09	2.79	2.99
Nerolidol		0.15		0.37				1.27
Benzyl benzoate		3.95		0.14	0.23		0.18	0.21
Benzyl acetate						0.92	0.36	0.29
Methyl <i>p</i> -anisate		0.35						
Benzyl alcohol		0.10	0.22	0.36	0.30			
Geranylacetone	1.19	0.90	0.91	0.43	0.50	0.59	0.97	0.83
Fruity								
Methyl benzoate		0.50						
Benzaldehyde		0.42	0.24	0.23	0.14	0.71	0.59	0.40
Decan-1,4-olide		0.38	0.11		0.07			0.28
Butyl acetate		0.05	0.11	0.05	0.07	0.92	0.36	0.29
Methyl caprate		2.60		0.11			0.36	
Methyl caprylate		0.35						
Woody, green								
α -Terpineol	0.28		0.06	4.12	9.34	2.27	2.52	7.84
6-Methyl-5-hepten-2-one	1.56	0.20	1.52		0.18	0.47	2.47	1.54
Undecan-2-one	7.43		1.91	0.77	2.09	1.26	1.52	2.04

a) GC/MS分析による全ピークエリアに対する相対量 (%) を示した

表 21 続き

栽培品種「シューベルト」(*C. persicum*) と *C. purpurascens* 系統 40-2 との種間雑種及び交配親の香気成分

成分	相対量 (%) ^a						
	種子親	花粉親	種間雑種系統				
	栽培品種 「シューベルト」	<i>C. purpurascens</i> 系統40-2	No. 7	No. 8	No. 9	No. 10	No. 11
Floral							
Linalool		0.78	1.56	1.18	0.55	4.16	1.93
Citronellal		1.07		0.65	0.38		
Citronellol		24.16	4.02	10.85	13.83	8.21	12.26
Geranial		0.49		1.21		1.77	2.04
Geraniol		0.68	0.65	6.15		2.25	19.56
Nerol		0.29		2.46		0.60	7.17
Methyl citronellate		0.95		0.62	0.28		0.85
(<i>E,Z</i>)-Farnesal		0.73		0.09		1.65	
(<i>E,E</i>)-Farnesal		0.69		0.24	0.22		0.06
(<i>E,Z</i>)-Farnesol		1.88	0.68	0.60	0.58	0.95	0.51
(<i>E,E</i>)-Farnesol		1.72	1.00	5.00	0.20	2.62	3.78
(<i>E</i>)-2,3-Dihydrofarnesal		2.72	0.57		0.53		
(<i>E</i>)-2,3-Dihydrofarnesol		17.69	4.89	3.65	8.98	4.19	5.84
Nerolidol		0.50		0.11	0.20		
Benzyl benzoate		1.62	0.56	0.17	0.10		
Methyl p-anisate		0.38					
Benzyl alcohol				0.07	0.12		
Geranylacetone	0.06	0.40	1.46	0.28	0.21	1.43	0.89
Fruity							
Benzaldehyde		0.20	0.52		0.64	1.65	
Butyl acetate	0.02		0.48			2.49	
Methyl caprate		1.38			0.16		0.37
Woody, green							
α -Terpineol	0.67			10.98			10.88
6-Methyl-5-hepten-2-one		0.40	1.50	1.45	1.21	1.52	2.15
Undecan-2-one	2.05		0.48	0.67	0.66	1.27	1.10

a) GC/MS分析による全ピークエリアに対する相対量 (%) を示した

表 22 登録品種の形態的特性

品種	花卉長 (cm)	花卉幅 (cm)	葉長 (cm)	葉幅 (cm)	花卉先端色	花卉色	花卉基部色	花卉の縁の欠刻
さわや香ミダイ	4.5	2.1	8.9	8.2	purplish pink (8,6,5RP95)	purplish pink (8,6,5RP95)	vivid red purple (4,14,5RP95)	無
シュューベルト (種子親)	4.6	4.3	10.4	9.6	purplish pink (8,6,2RP92)	purplish pink (8,6,2RP92)	vivid reddish purple (3.5,14,9P89)	無
おだや香	3.8	1.9	5.7	6	bright red purple (5,14,2RP92)	bright red purple (5,14,2RP92)	vivid red purple (3.5,12,2RP92)	無
あけぼの (種子親)	5.5	3.8	9.2	8	bright red purple (5,14,2RP92)	bright red purple (5,14,2RP92)	vivid red purple (3.5,12,2RP92)	無
はる香ミダイ	2.9	1.6	7	6.8	vivid red purple (4,14,2RP92)	dp.reddish purple (3,12,9P89)	vivid red purple (3.5,12,2RP92)	有
ビクトリア (種子親)	4.2	3.2	11.2	10.3	vivid purplish red (4,15,7RP97)	pinkish white (9,1,7RP97)	vivid purplish red (4,15,7RP97)	有
<i>C. purpurascens</i> (花粉親)	2.1	1.3	6.0	6.0	strong purplish pink (6,12.5,2RP92)	strong purplish pink (6,12.5,2RP92)	vivid red purple (4,14,2RP92)	無

*V, Value C:Chroma H;Hue

表 23 登録品種の香気成分相対量

香気成分	さわや香ミズイ	おだや香	はる香ミズイ	香気成分	さわや香ミズイ	おだや香	はる香ミズイ
Terpenoids				α-Eudesmol	0.21		0.12
Monoterpenes				γ-Eudesmol			0.09
Esters				(E,Z)-Farnesol	0.59	0.54	1.04
Methyl citronellate	2.39		0.08	(E,E)-Farnesol	1.18	4.10	7.27
Methyl geranate			0.19	Hydrocarbones			
Aldehydes				Caryophyllene	1.05	0.14	1.27
Citronellal	0.51		0.15	β-Element	1.06		1.08
Geraniol	0.41	2.33	1.69	(E)-α-Farnesene	4.70	0.37	12.30
Neral	0.31	1.36	0.97	(E)-β-Farnesene			0.53
Alcohols				Benzenoids			
Citronellol	42.30	14.74	12.30	Esters			
Geraniol	1.39	19.96	11.86	Benzyl benzoate		0.28	0.09
Linalool	0.29	1.23	0.22	Methyl benzoate	0.07		
Menthol		0.28	0.15	Ketones			
Nerol	4.76	11.46	15.68	Acetophenone		0.34	
α-Terpineol	9.55	5.14	7.51	Aldehydes			
Hydrocarbones				Benzaldehyde		0.41	
<i>p</i> -Cymene		1.13		Alcohols			
Limonene	0.49	1.05	0.09	Benzyl alcohol			0.09
Myrcene	0.58	0.32	0.18	Fatty acid derivatives			
Sesquiterpenes				Esters			
Ketones				Butyl acetate		0.77	
Geranylacetone	0.26	0.40	0.62	(Z)-3-Hexenyl acetate		0.17	
Aldehydes				Methyl caprate	0.20		
(E)-2,3-Dihydrofarnesal	0.71	0.21	0.75	Ketones			
(Z,E)-Farnesal	0.14	0.79	0.16	6-Methyl-5-hepten-2-one	0.62	1.43	0.32
(E,Z)-Farnesal	0.15	0.34	0.53	Nonan-2-one		0.09	
(E,E)-Farnesal				Undecan-2-one	1.60	1.40	1.21
Alcohols				Aldehydes			
(E)-2,3-Dihydrofarnesol	12.83	2.60	15.02	Nonanal			0.08
Elemol	0.47		0.11				
β-Eudesmol	0.31	0.17	0.33				

*GC/MS分析による全ピークエリアに対する相対量 (%) を示した

表 24 登録品種の培養反応

品種	置床切片数 (個)	不定芽形成切片数 (個)	形成率 (%)
さわや香ミディ	25	24	96
おだや香	25	21	88
はる香ミディ	25	13	52

表 25 登録品種（複半数体）の葉片培養による倍加個体形成

品種	再分化個体数 (個)	再分化個体の内訳(個)		複二倍体個体 形成率(%)
		複半数体	複二倍体	
さわや香ミディ	43	9	34	79.1
おだや香	50	45	5	10.0

表 26 シクラメン栽培品種 (*C. persicum*) と *C. purpurascens* との種間雑種品種「さわや香ミディ」(複半数体) と、「さわや香ミディ」の葉片培養によって生じた複二倍体の花きおよび葉の形質

		複半数体	複二倍体	有意差
個体数		9	34	
花弁長	(cm±SD)	4.4±0.13	4.4±0.27	ns
花弁幅	(cm±SD)	1.8±0.10	2.2±0.18	**
花茎径	(mm±SD)	2.5±0.23	3.1±0.54	**
花茎長	(cm±SD)	15.5±1.04	15.4±1.18	ns
葉長	(cm±SD)	8.2±0.65	9.0±0.65	**
葉幅	(cm±SD)	7.7±0.57	8.3±0.60	**
葉厚	(mm±SD)	0.4±0.04	0.5±0.05	**
葉柄径	(mm±SD)	2.9±0.18	3.4±0.26	**
葉柄長	(cm±SD)	8.5±0.67	9.2±0.84	*

表 27 シクラメン栽培品種 (*C. persicum*) と *C. purpurascens* との種間雑種品種「さわや香ミディ」(複半数体) と, 「さわや香ミディ」の葉片培養によって生じた複二倍体の主要香気成分相対量

成分	相対量 (内標比)		成分	相対量 (内標比)	
	複半数体	複二倍体		複半数体	複二倍体
Terpenoids			Terpenoids		
Monoterpenes			Sesquiterpenes		
Esters			Hydrocarbones		
Methyl citronellate	2.39	5.06	Caryophyllene	1.05	1.33
Aldehydes			β -Elemene	1.06	1.84
Citronellal	0.51	1.64	(Z)- α -Farnesene	0.31	0.53
Geranial	0.41	1.07	(E)- α -Farnesene	4.70	30.36
Neral	0.31	0.95			
Alcohols			Benzenoids		
Citronellol	42.30	45.54	Esters		
Geraniol	1.36	3.16	Methyl benzoate	0.07	0.05
Linalool	0.29	0.63	other		
Nerol	4.76	10.77	Anisole	0.10	0.17
α -Terpineol	9.55	9.84			
Hydrocarbones			Fatty acid derivatives		
Limonene	0.49	0.60	Esters		
Myrcene	0.58	0.84	Methyl caprate	0.20	0.33
Sesquiterpenes			Ketones		
Ketones			6-Methyl-5-hepten-2-one	0.62	1.05
Geranylacetone	0.26	0.53	Aldehydes		
Aldehydes			Decanal	0.07	0.12
(E)-2,3-Dihydrofarnesal	0.71	4.06	Hydrocarbons		
(E,Z)-Farnesal	0.14	0.33	Tridecane	0.13	0.23
(E,E)-Farnesal	0.15	0.48	Undecane	0.09	0.13
Alcohols					
(E)-2,3-Dihydrofarnesol	12.83	23.60			
Elemol	0.47	0.67			
α -Eudesmol	0.21	0.25			
β -Eudesmol	0.31	0.50			
(E,Z)-Farnesol	0.59	0.80			
(E,E)-Farnesol	1.18	2.34			

表 28 シクラメン栽培品種 (*C. persicum*) と *C. purpurascens* との種間雑種品種「さわや香ミディ」、「おだや香」から葉片培養によって生じた複二倍体の自殖による採種効率

品種	交配株数	交配数(A) (個)	結実莢数 (B) (個)	結実率(%) (B/A×100)	発芽種子数 (個)	交配数あたり 発芽種子数 (個)
さわや香ミディ	16	142	33	23.2	12	0.08
おだや香	5	24	19	79.1	4	0.16

第2章

香りシクラメンの香気発散に及ぼす環境影響

緒言

植物からの揮発性成分の発散は土壌水分や湿度，温度，光の強さ，肥料などの影響を受けるといわれている (Dudareva et al., 2006). 室内提示中に特に影響を及ぼす主な環境要因としては温度と光が考えられるため，本章では，香りシクラメンの香気発散に対する温度および光強度の影響を調査することとした．キンギョソウ (Kolossova et al., 2001), バラ (Shalit et al., 2003, Rusanov et al., 2011), アッサムニオイザクラ (Li et al., 2016), イランイラン (Qin et al., 2014), Vanda Mimi Palmer (Mohd-Hairul et al., 2010) においては香気発散量は，花のステージによって変化することが知られている．そこで，光強度の影響については，香気発散量の増減を開花ステージとの関係で検証した．また，これまでに，花からの香気発散について，GC/MSによって分析された香気成分の量と官能検査によって得られる香気強度との関係を検証している例はほとんどない．Miyazaki et al. (2012) によると，タンジェリンの雑種 から GC/MS で検出された 146 成分のうち官能検査では 49 成分が確認できた状況にとどまっており，GC/MS は知覚を正確には表していないとしている．Du et al. (2011) は，官能検査結果と GC/MS による成分分析の結果を総合的に評価し，官能評価に影響を及ぼす主要因となる成分を特定している．そこで，本章では展示期間中の香気の変化について，GC/MS 分析によって得られた香気成分発散量と官能検査の関係について調査した．さらに，販売時間帯により，香気発散に変化が生じるとの指摘を受けたことから，当該現象を明らかにすることを目的として，香気発散の日変化特性を調査した．

第1節 温度の影響

材料および方法

「さわや香ミディ」を供試品種とした．供試品種の葉を神田 (1997) の方法によって培養し，得られたクローン苗を加温パイプハウス (最低温度 10°C で加温) 内で栽培した．本葉 2~3 枚程度の培養苗を 9 cm ビニールポットに鉢上げし，葉枚数 10 枚程度の植物体を 5 号鉢に移植して仕上げ鉢とし，開花盛期の個体を試験に供した．定植用土は，赤土：腐葉土：ピート=5：3：2 とし，N・P・K=50・100・50 ppm の液肥を 7~10 日間隔で，灌水と同時に施用した．

15°C，25°C，35°C の 3 段階の温度処理区を設定したインキュベーター内で実験を行った．光条件としては，光強度 200 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ の光条件で 24 時間連続照明とした．各処

理区につき「さわや香ミディ」3 個体を供試し、開花後 3 日目の花から香気を捕集した。捕集した香気を後述の方法により GC/MS で分析した。

各個体の花全体をまとめてテドラーバックで覆い、捕集剤として Tanax®TA (400 mg) を充填したガラス管を上方に装着し、小型エアーポンプによりテドラーバック内のヘッドスペースガスを吸引 (500 mL/min) して捕集剤に導入することにより香気を捕集した。香気捕集は、24 時間連続で行った。ジエチルエーテル 5 mL で脱着後、内標準として dibutylhydroxytoluene 8 µg を添加し、溶媒除去した濃縮物 2 µL を GC/MS (GC : 島津 GC-MS-QP2010, イオン化室温度 200°C, カラム:BC-WAX 50 m×0.25 mm.id.×0.15 µm, 温度 70°C~220°C, 4°C/min) および GC/FID (GC : HP-6890N) によって分析し標準物質と比較、解析した。

結果

1 花あたりの香気成分総発散量に対する温度条件の影響を図 27 に示した。総発散量は、15°C と 25°C では有意差はなかったが、35°C では少なくなり 25°C の 25% 程度であった。内標準量に対する各香気成分の相対量を主要成分ごとに図 28 に示した。Myrcene, Limonene, Linalool, Citronellol は、総発散量と同様に 15°C と 25°C では相対量に有意差はなかったが、35°C では少なくなった。Nerol は 15°C で最も相対量が多く、25°C では少なくなった。さらに 35°C では 25°C よりも相対量が少なく、温度が高くなるにつれて相対量が減少する傾向にあった。Geraniol も 15°C で最も相対量が多く、25°C では少なくなった。35°C では発散が認められなかった。

第 2 節 光強度の影響

材料および方法

「おだや香」を供試品種とした。管理方法等は品種「さわや香ミディ」と同様に行った。

①ハウス内と屋内展示での香気発散比較実験および官能評価

「おだや香」の開花個体 2 鉢を室内に展示した。2, 3 日おきにパネルーに花冠から 20~30 cm の距離から花の香りをかいでもらい、その香気強度を「0 : 無, 1 : 弱, 2 : 中, 3 : 強」の 4 段階で評価した。対照区として、同様に開花個体 2 鉢をハウス内に置き、パネルーに花の香りをかいでもらい、その香気強度を「0 : 無, 1 : 弱, 2 : 中, 3 : 強」の 4 段階で評価した。パネルーは 20 歳代から 50 歳代の男女 10 人以上とした。官能評価は 10 : 30~12 : 30 に行った。なお、調査時の気温、湿度、光強度は表 29 に示したとおりである。香気強度は数値化し、二元配置の分散分析により検定を行った。

②インキュベーター内での光処理実験および官能評価

低光強度条件として遮光資材を用いて $10 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ にした処理区と、高光強度条件として $300 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ にした処理区をインキュベーター内に設定した。日長条件は 12 時間日長（7 時～19 時光条件）、温度条件は 23°C に設定した。「おだや香」を各処理区に 4 鉢ずつ供試した。各個体について、開花直後の 1 花を実験に用いた。他の花は蕾のうちに除去した。開花 1 日目、4, 8, 11, 15, 18, 22 日目に花の香気をパネラーにかいでもらい香気強度を「0：無，1：弱，2：中，3：強」の 4 段階で評価した。評価は 5 人のパネラーによって行った。香気強度の評価は 10：30～12：30 に行った。なお、調査時の温度は表 30 に示したとおりである。香気強度は数値化し、二元配置の分散分析により検定を行った。

③香気成分分析

開花直前の 1 花にテドラーバックをかぶせ、Porous polymer を充填した absorbent cartridge (ORBO 42-small:Sipelco, Bellefonte, PA, USA) を上方に装着した。活性炭を通した空気を小型エアープンプによってテドラーバッグ内に吸引し、テドラーバック内のヘッドスペースガスを吸引 ($500 \text{ mL}/\text{min}$) して捕集剤に導入することにより香気を捕集した。香気捕集は、24 時間連続で行った。2 mL の再蒸留ヘキサンにより香気成分を溶媒抽出し、内部標準として n-デカン酸エチル $20 \mu\text{g}$ を添加し、溶媒除去した濃縮物を GC/MS によって測定した。以下、分析方法は、第 1 章、第 2 節と同様に行った。

GC/MS によって検出された香気成分の成分量と、官能検査によって評価した香気強度の間でスピアマンの順位相関による検定を行った。各光条件下での開花ステージごとの香気発散量について、主成分分析を行った。さらに主成分分析によって得られた値と香気強度との間でスピアマンの順位相関による検定を行った。統計処理はエクセル統計 (Bell curve for Excell, version2.00) を用いた。

結果

1) 展示中のシクラメン個体からの香気発散

屋外のハウス内の対照個体では、調査期間中を通じて、ほぼ同程度の香気強度を維持していた。室内展示していた供試個体の香気強度は、開花後 10 日目まではハウス内の対照個体の香気強度と有意差がなかった。開花後 13 日目以降では、室内の供試個体の香気強度は低下し、ハウス内の対照個体との間で香気強度に有意差が認められた。ハウス内、室内いずれの個体についても開花数には顕著な差はなく、調査開始時と調査終了時の開花総数は同程度であった (図 29)。

2) 異なる光強度下に置床したシクラメンの個花からの香気発散

開花後 1 日目では 300 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ の高光強度条件でも 10 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ の低光強度条件でも、個花から発散する香気強度は低く、光強度が異なっても香気強度に差はなかった。300 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ 条件下では開花後 4 日目から 11 日目までは、開花後 1 日目に比較して、香気強度は有意に高くなった。開花後 15 日目以降は香気強度は低くなり、開花後 1 日目の香気強度と同程度になった。一方、10 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ 条件下では開花後 4 日目以降 11 日目までは、開花後 1 日目と香気強度は変わらず、低いままであった。開花後 15 日目以降はさらに香気強度が低くなり、官能的にはほとんど香気が感じられない程度になった。開花後 4 日目以降 18 日目までは、10 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ 条件下では、300 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ 条件下に比べて常に香気強度が有意に低くなった (図 30)。

3) GC/MS によって検出された香気成分

総香気成分量、Citronellol, Geraniol, (*E*)-2,3-Dihydrofarnesol, (*Z,E*)-Farnesol, (*E,E*)-Farnesol, Undecan-2-one, (*E*)- β -Farnesene, α -Terpineol については低光強度条件の個花からの発散量は、高光強度条件における発散量に比べて、調査期間中、常に低く推移した。一方、Caryophyllene は低光強度条件のほうが発散量が高くなった。Linalool と Methyl geranate は高光強度条件でも低光強度条件でも香気発散量に差がなく、光強度の影響を受けにくかった。調査期間全体を通して、Citronellol, Geraniol, (*E*)-2,3-Dihydrofarnesol, (*E,E*)-Farnesol がほかの成分に比較して発散量が多かった。Geraniol では開花後 4 日目が最も多くなった。Citronellol では開花後 4 日目から 11 日まで発散量に差が認められなかった。開花 4 日目以降、Undecan-2-one, Caryophyllen は、ステージによる変化がほとんど認められなかった。このようにステージごとの発散量については、成分によって変動パターンが異なっていた (図 31)。

4) 香気成分と香気強度との関係

総香気成分相対量と官能検査による香気強度の間で、 $p < 0.01$ ($r_s = 0.9394$) で順位相関が有意であった (図 32)。同様に Citronellol ($r_s = 0.927$)、Geraniol ($r_s = 0.915$)、(*Z,E*)-Farnesol ($r_s = 0.891$)、(*E,E*)-Farnesol ($r_s = 0.939$)、(*E*)-2,3-Dihydrofarnesol ($r_s = 0.903$)、 α -Terpineol ($r_s = 0.927$)、Undecan-2-one ($r_s = 0.830$)、(*E*)- β -Farnesene ($r_s = 0.867$) の成分相対量と香気強度との間で $p < 0.01$ で順位相関が有意であった。また (*E,E*)- α -Farnesene ($r_s = 0.733$) の成分相対量と香気強度の間でも $p < 0.05$ で有意な順位相関が認められた (表 31)。

主成分分析を行った結果、第 1 主成分はフローラル成分である Citronellol (7.831)、(*E*)-2,3-Dihydrofarnesol (3.764) と正の相関があり、ウッディー、グリーン成分である Undecan-2-one (-4.231)、グリーン様フローラル成分である Methyl geranate (-4.130) とは負の相関が認められた。第 2 主成分はウッディー、グリーン成分である

(*E,E*)- α -Farnesene (5.081), フローラル成分である Linalool (3.604) と正の相関があり, フローラル成分である(*E*)-2,3-Dihydrofarnesol (-3.890) および(*E,E*)-Farnesol (-3.386) とは負の相関が認められた. 低光強度区でも高光強度区でも開花1日目では, 第1主成分は低い値にプロットされることから, フローラルな香気成分の寄与が少ないことが明らかになった. 開花4日以降では, 低光強度区の15日目を除き, 高光強度区でも低光強度区でも第1主成分上の位置はほぼ同じであるが, 第2主成分については低光強度区が正の位置, 高光強度区が負の位置に分かれてプロットされた. このことから, フローラルな香気成分は同程度だが, ウッディー, グリーン様フローラル成分の比率が低光強度区のほうが高くなることがわかった(図33). また, 第2主成分の主成分分析スコアと香気強度の間に $p < 0.01$ で有意な順位相関 ($r_s = -0.891$) が認められた(図34).

第3節 香気発散の日変化

材料および方法

一日を区分1(5時40分~9時40分), 区分2(10時~14時), 区分3(14時20分~18時20分), 区分4(18時40分~22時40分)の時間帯に分け, ハウス内において, 各区分別に連続4時間で香気を捕集した. 実験には「さわや香ミディ」2個体を供試し, 個体ごとに香気を捕集した.

各個体の花全体をまとめてテドラーパックで覆い, 捕集剤として Tanax®TA(400 mg)を充填したガラス管を上方に装着し, 小型エアポンプによりテドラーパック内のヘッドスペースガスを吸引(500 mL/min)して捕集剤に導入することにより香気を捕集した. ジエチルエーテル5 mLで脱着後, 内標準として0.2%benzyl benzoateのメタノール溶液を5 μ L添加し, 溶媒除去した濃縮物をGC/MSおよびGC/FIDにより分析した. 分析方法は, 第2章, 第1節と同様に行った. 測定結果から, 各香気成分ごとの内標準に対する相対量を算出した.

結果

香気捕集日の試験ハウス内の気温を図35に示した. 9時以降に15°Cを超え, 10時~14時の時間帯では平均して25°C程度の温度であったが, 16時以降には15°C以下に低下した.

時間帯ごとの主要香気成分の相対量を図36に示した. 5:40~9:40および10:00~14:00ではNerol, α -Terpineol, Citronellol, (*E*)-2,3-Dihydrofarnesolの相対量が多かったが, 14:20~18:20ではNerol, Citronellol, (*E*)-2,3-Dihydrofarnesolの相対量は大幅に減少し, 主要成分の中では α -Terpineolの相対量が最も多くなった. 18:40~22:40

では全体の 46%を α -Terpineol が占めた。いずれの成分も 10 時から 14 時が最大になるが、他の時間帯での消長は成分ごとに異なり、朝から 14 時までに発散が多い成分 (Nerol, Citronellol, Geraniol, Neral, Geranial, Undecan-2-one), 5 : 40~9 : 40 よりも, 14 : 20~18 : 20 に発散量が多くなる成分 (α -Terpineol, (*E*)-2,3-Dihydrofarnesol, Benzyl alcohol, Benzaldehyde, Geranylacetone, Methyl citronellate) が認められた。主要香気成分を表 32 のように、フローラル成分, フルーティー成分, ウッディー, グリーン成分に分類し, その相対量の合計を, 香気を捕集した時間帯ごとに図 37 に示した。全体に占める各相対量の割合は, フローラル成分は, 5 : 40~9 : 40 では 62.6%, 10 : 00~14 : 00 では 63.4%, 14 : 20~18 : 20 では 38.0%, 18 : 40~22 : 40 では 49.5%であった。フルーティー成分は, 5 : 40~9 : 40 では 0.5%, 10 : 00~14 : 00 では 0.4%, 14 : 20~18 : 20 では 2.7%, 18 : 40~22 : 40 では 0%であった。ウッディー, グリーン成分は, 5 : 40~9 : 40 では 36.9%, 10 : 00~14 : 00 では 36.2%, 14 : 20~18 : 20 では 59.3%, 18 : 40~22 : 40 では 50.5%であった。5 : 40~9 : 40 および 10 : 00~14 : 00 ではフローラル成分の割合が最も多いが, 14 : 20~18 : 20 ではウッディー, グリーン成分の割合が多くなった。18 : 40~22 : 40 ではフローラル成分とウッディー, グリーン成分の相対量は同等であったが, 香気成分総量は非常に少なくなった。

考察

今回, 香りシクラメンからの香気成分発散は温度の影響を受け, 35°Cでは発散量が減少することが明らかになった (図 27)。また, 香気成分によって, 反応は異なることが分かった (図 28)。Farré-Armengol et al. (2014) は, 地中海沿岸に生息する植物 7 種を用いて香気発散に対する温度の影響について調査している。その報告では, 同じ成分でも, その発散が最大になる温度は, 植物種によって異なり, 冬開花型植物では香気発散適温は低くなるとしている (Farré-Armengol et al., 2014)。シクラメンは冬開花型であり, 今回の結果から判明したように香気発散適温は低く, 訪花昆虫の活動適温に適応した香気発散がおこっていると考えられる。

香気発散に対する温度の影響として, 特定の成分の揮発性や拡散性の増加がみられると報告されている (Niinemets et al., 2004)。今回の結果では, Citronellol は, 25°Cでも安定して発散するが, Nerol, Geraniol の発散適温は 15°Cであった (図 28)。気温の上昇はいずれの化合物に対しても発散量を増加させると考えられることから, 25°Cでは, Citronellol に比べて Nerol と Geraniol の内生量が減少したと考えられる。Can'ani et al. (2015) はペチュニアの香気発散が温度によって変化することを示した。これは反応の最終段階を触媒する酵素の転写レベルだけでなく, 基質の利用や代謝系の維持にかかわる遺伝子の発現レベルの結果によってもたらされると考えられている。本研究においても, 35°Cでは, Linalool, Geraniol, Myrcene のすべての発散量が低下したことから (図

28), いずれの化合物も内生量が減少するように代謝系が変化したと考えられる。温度による影響は、処理後 1 日目に現れることから、酵素活性や遺伝子発現に関わる制御系は、温度変化に対して非常に速やかに反応するといえる。

光については、光強度が強いと多くの場合は香気発散が増加する (Hu et al., 2013, Jakobsen et al., 1994)。つまり、光強度が屋外より低い室内展示では香気発散量は低下すると考えられる。香りシクラメンを用いて行った本研究でも、官能評価による香気強度や、GC/MS によって分析した香気総発散量は、低光強度条件のほうが低くなった (図 29, 図 30)。香りシクラメン個体からの香気発散については、室内の供試個体の香気強度は、開花後 13 日目以降では低下し、ハウス内の対照個体の香気強度との間で有意差が認められた。個々の花については、開花後 4 日目以降は、低光強度条件下では、高光強度条件下に比べて常に香気強度が有意に弱くなり、開花後 15 日目以降は香気はほとんど感じられなくなった。室内展示しているシクラメン個体からの香気発散が、徐々に低下する原因としては、新たに開花する花からの発散量が低光強度条件下では低く、このため累積する香気強度が低光強度環境では徐々に低下するためと考えられる。なお、開花開始と調査終了では、開花数には大きな変化がなかったことから、今回は開花数による香気への影響は考えにくい。

弱光下では、光合成が低下し、光合成産物が減少する。そのため限られた光合成産物を生合成系を通じて有効に配分することになる。ユリでは、 α -Ocimene, Linalool, 2-Ethyl-1-hexanol, Methyl benzoate の発散量は、光強度が高くなると増加したが、(E)- β -Ocimene の発散量は低下した (Hu et al., 2013)。このように光に対する反応は個々の成分によって異なるとする報告がある。これは、光合成に関与する代謝系とは別に、各香気成分を合成する酵素の活性が、光によって個別に制御されていることを示す。香りシクラメンでも光によって発散量が大きく影響される成分と、影響を受けにくい成分があり、また、すべての成分が低光量条件で減少するわけではなかった (図 31)。Hu et al. (2013) の実験ではユリでは、 $300 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ までの光強度条件では、Linalool は光が強くなるほど発散量が増加したが、シクラメンでは同じ $300 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ の光強度条件下では Linalool の顕著な発散量増加は認められなかった。このように光に対する反応性は、同じ成分であっても植物種によって異なっている。今回シクラメンでは Linalool の発散量は、光強度によってほとんど影響されなかった。一方、Geraniol, Citronellol は光により影響を受けた。Linalool, Geraniol は GPP からそれぞれ酵素 LIS, GES によって生合成される。このことから、弱光条件は Linalool 合成酵素である LIS 活性は低下させないが、Geraniol 合成酵素である GES 活性を低下させると推測される。Geraniol 合成が減少するため、引き続き生産される Citronellol も減少すると考えられる。Sesquiterpenes についても Farnesol, Dihydrofarnesol の発散量は光の影響を受けて弱光下で低下するが、Caryophyllene の発散量は低下しない。これは、FPP から産生する Farnesol を触媒する酵素活性は弱光で低下し、そのため Dihydrofarnesol も続いて減少す

るが、同じく FPP から生産する Caryophyllene を触媒する CAS の活性は低下せず、むしろ弱光条件で高くなると推測される。

香気発散は、開花のステージによっても変動する。花の開花から老化までのあいだに、カーネーションの 10 種の揮発性成分の量は、独立して変動するが、このことはこれら成分の生合成は個別に制御されていることを示している (Schade et al., 2001)。香りシクラメンでも 個々の花からの香気成分発散については、 $300 \mu\text{mol} / \text{m}^2\text{s}$ の高光強度条件では、開花 4 日から 11 日目に香気強度が多くなり、15 日目から減少した。 $10 \mu\text{mol} / \text{m}^2\text{s}$ の低光強度条件では開花後 15 日目以降は、香気強度の著しい低下が認められた (図 30)。このようにステージによって香りシクラメンでも香気発散は変化し、さらにその変動状況は、光強度の影響を受けた。また、カーネーションと同様にステージごとの発散量の変動パターンは成分によって異なっていた (図 31)。具体的には、高光強度では、Linalool, Geraniol の発散量は 4 日目が最大で以降低下する。一方、Citronellol の発散量は、11 日目でも低下しない。これは、Linalool 合成酵素である LIS, Geraniol の合成酵素 GES, Geraniol から Citronellol を合成する脱水素酵素の活性は、カーネーションの場合と同様にステージにより個別に制御されているためであると推測される。開花 4 日目以降、Undecan-2-one, Caryophyllen は、ステージによる変化がほとんど認められない。Undecan-2-one は、節足昆虫に対する忌避効果 (Kinsps et al., 2011), Caryophyllen は病原菌や食害昆虫に対する忌避効果があるとされている (Huang et al., 2012, McCormick et al., 2012)。このようにこれらの成分は、植物に対する防除効果があることから、シクラメンについても重要な成分として生存期間中継続して発散される可能性がある。

Miyazaki et al. (2012) によると、タンジェリンの雑種 から GC/MS で検出された 146 成分のうち官能検査では 49 成分が確認できた状況にとどまっており、GC/MS は知覚を正確には表していないとしている。Du et al. (2011) は、官能検査結果と GC/MS による成分分析の結果を総合的に評価し、官能評価に影響を及ぼす主要因となる成分を特定している。今回、香りシクラメンでは、香気成分総量のほか、Citronellol, Geraniol, (Z,E)-Farnesol, (E,E)-Farnesol, (E)-2,3-Dihydrofarnesol, α -Terpineol, Undecan-2-one, (E)- β -Farnesene, (E,E)- α -Farnesene などの成分が官能検査による香気強度と順位相関が高かった (図 32, 表 31)。このことから、これらの主要成分の発散量は香気強度に影響を及ぼすことが明らかになった。これらの香気成分のうち、発散量も多かった Citronellol, Geraniol, (E,E)-Farnesol, (E)-2,3-Dihydrofarnesol は香気印象に対し、特に大きく影響を及ぼすと考えられた。

主成分分析結果により、香気強度が強くなる開花 4 日から 11 日目では、低光強度条件では高光強度条件に比較してフローラルな香気成分である (E)-2,3-Dihydrofarnesol と (E,E)-Farnesol の寄与程度が低くなり、ウッディー、グリーン成分である (E,E)- α -Farnesene とフローラル成分である Linalool の寄与程度が高くなることがわかった (図 33)。また、

第2主成分の主成分分析スコアと香気強度の間に有意な負の順位相関も認められた(図34)。これは、第2主成分のスコアが正になり、フローラルな成分の寄与が少なくなってくると、香気強度が低下し、香りが弱くなることを示している。このことから、発散量の多少だけでなく、フローラル成分に対するウッディー、グリーン様フローラル成分の相対比が香気印象に影響し、低光強度条件において香気が弱いと感じさせる原因になると推測された。これらの結果から、香りシクラメンの場合は、GC/MSによる成分分析により検出された香気成分相対量は、官能評価と関連性が高いと結論づけられる。

植物からの香気成分の発散には日周性があることが知られている(Oyama-Okubo et al., 2005, 2011, Kolosova et al., 2001)。本研究においても、香りシクラメンの香気発現に日変化が認められた(図37)。今回明らかになった香気成分の発散量の日変化に基づくと、香りシクラメンの時間帯別の香気発現の特徴は次のように表現することができる。早朝から14時頃まではフローラルな香りを強く発現しているが、14時頃から夕方にかけてフローラル感が弱まり、ウッディー、グリーンの香調が強くなる。さらに夜間になると香気強度が著しく弱まる。シクラメンの直接販売の現場では、午前中はフローラルな香りが強いが、午後になると徐々に香りが弱くなり、香りの質も低下すると指摘されているが、今回明らかとなった香気成分発散の日変化は、こうした現象を裏付けるものといえる。いずれの成分も10時から14時が最大になるが、他の時間帯での消長は、成分ごとに異なり朝から14時までには発散が多い成分と、午前中よりも、14時以降に発散量が多くなる成分が認められた(図36)。こうした現象は、誘引昆虫の活動時間帯との関係がある可能性が示唆される(Dobson, 2006)。 α -Terpineolは、早朝から夜間まで発散が継続し、夜間では最も多く発散される成分である。 α -Terpineolは、テレピン油様のおいさを発する。午後から香りシクラメンの香気の本質が低下するのは、芳香性成分発散量が減少するためだけでなく、 α -Terpineolが主要成分として残るためと考えられる。

本章の結果から、香りシクラメンの香気発散は温度や光強度の影響を受けることが明らかになった。香りシクラメンを展示する場合は、周囲の温度条件が15~25℃の適正温度内であるように調整すべきである。また、光強度が屋外より低い室内展示では香気発散量は低下することが明らかになったことから、香気発散の面から考えられる展示可能期間は10日程度であると考えられる。日変化については、午前中はフローラルな香りが強いが、午後になると、ウッディー、グリーンな香りの割合が大きくなることにより質も低下することも明らかになった。香りシクラメンを温室内で販売する際は、この点に留意して香気発現特性を活かした適切な販売を行うことが望ましい。

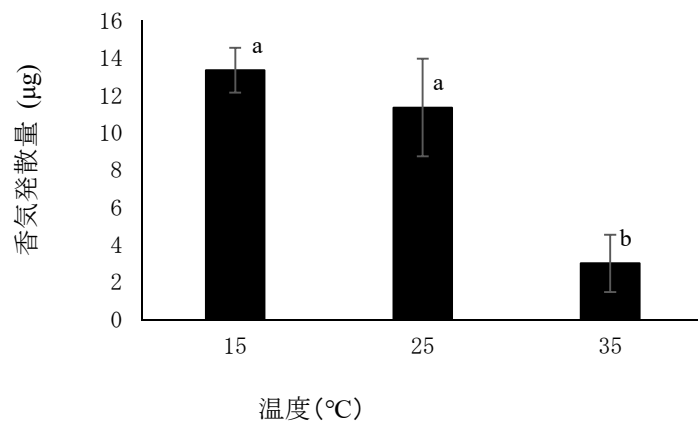


図 27 香気発散量に対する温度の影響
アルファベットの異符号間で有意差あり。
エラーバーは標準誤差。

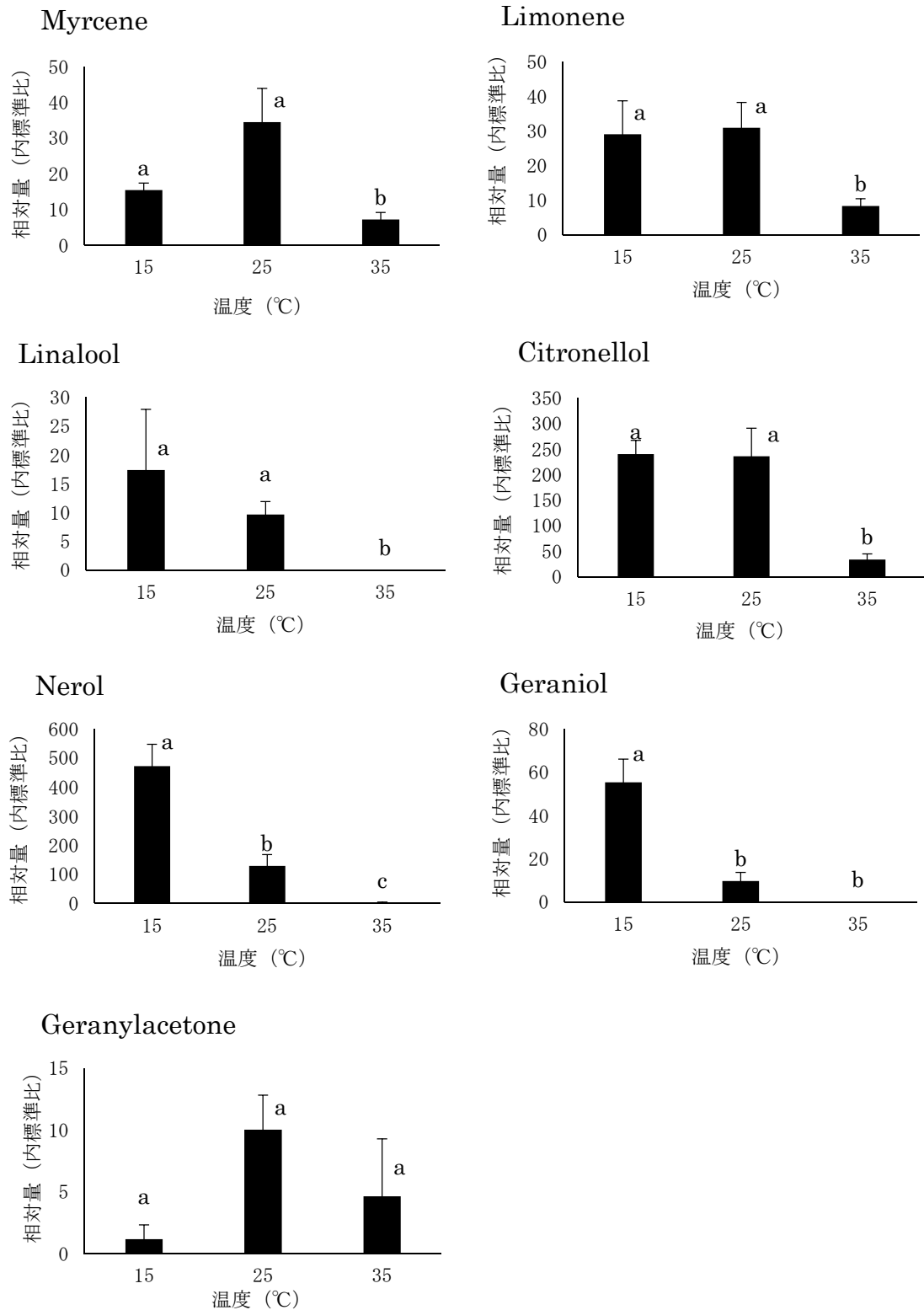


図 28 主要香気成分発散相対量に対する温度の影響

アルファベットの異なる間では有意差あり。エラーバーは標準誤差。

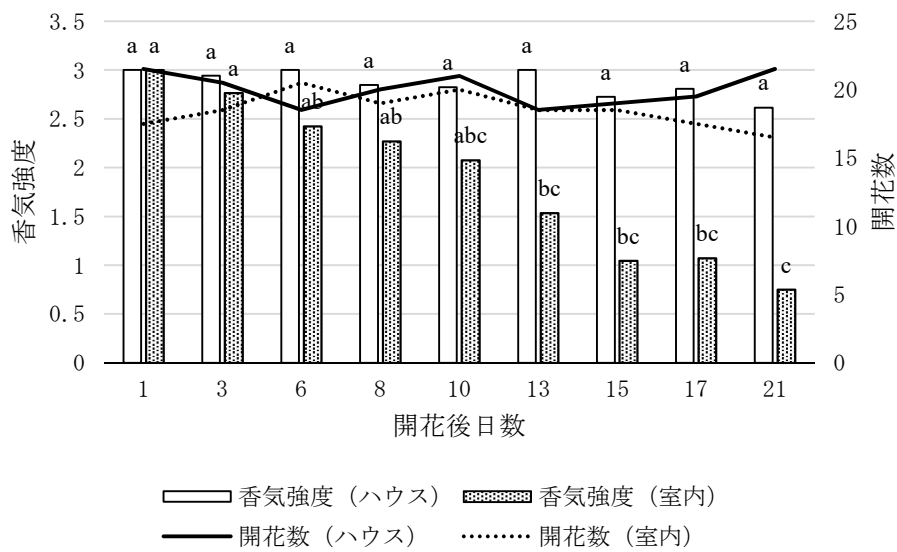


図 29 室内展示とハウス栽培における香りシクラメン香り強度と開花数の推移
アルファベットの異符号間で有意差あり

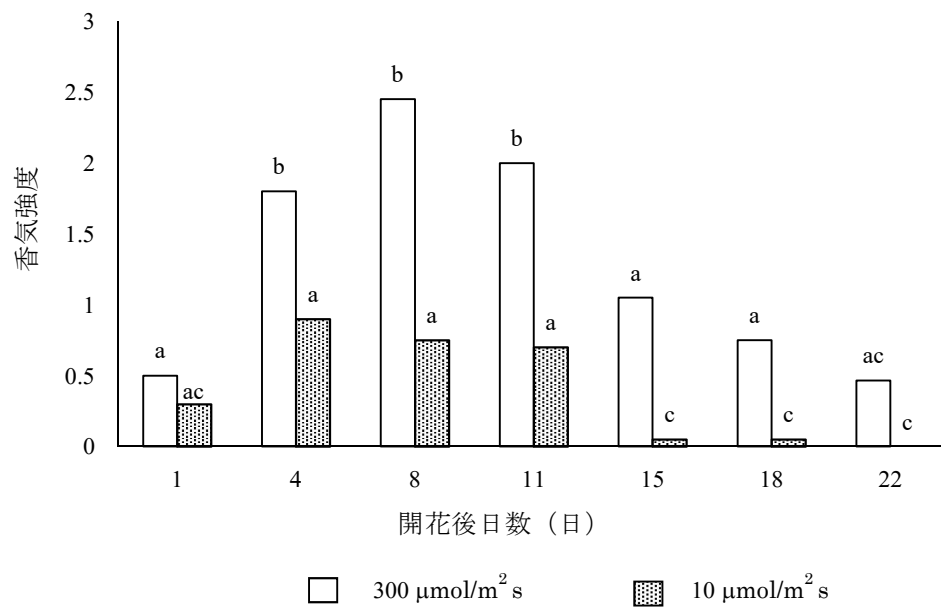


図 30 香りシクラメンの香気強度に対する光強度の影響

アルファベットの異符号間で有意差あり

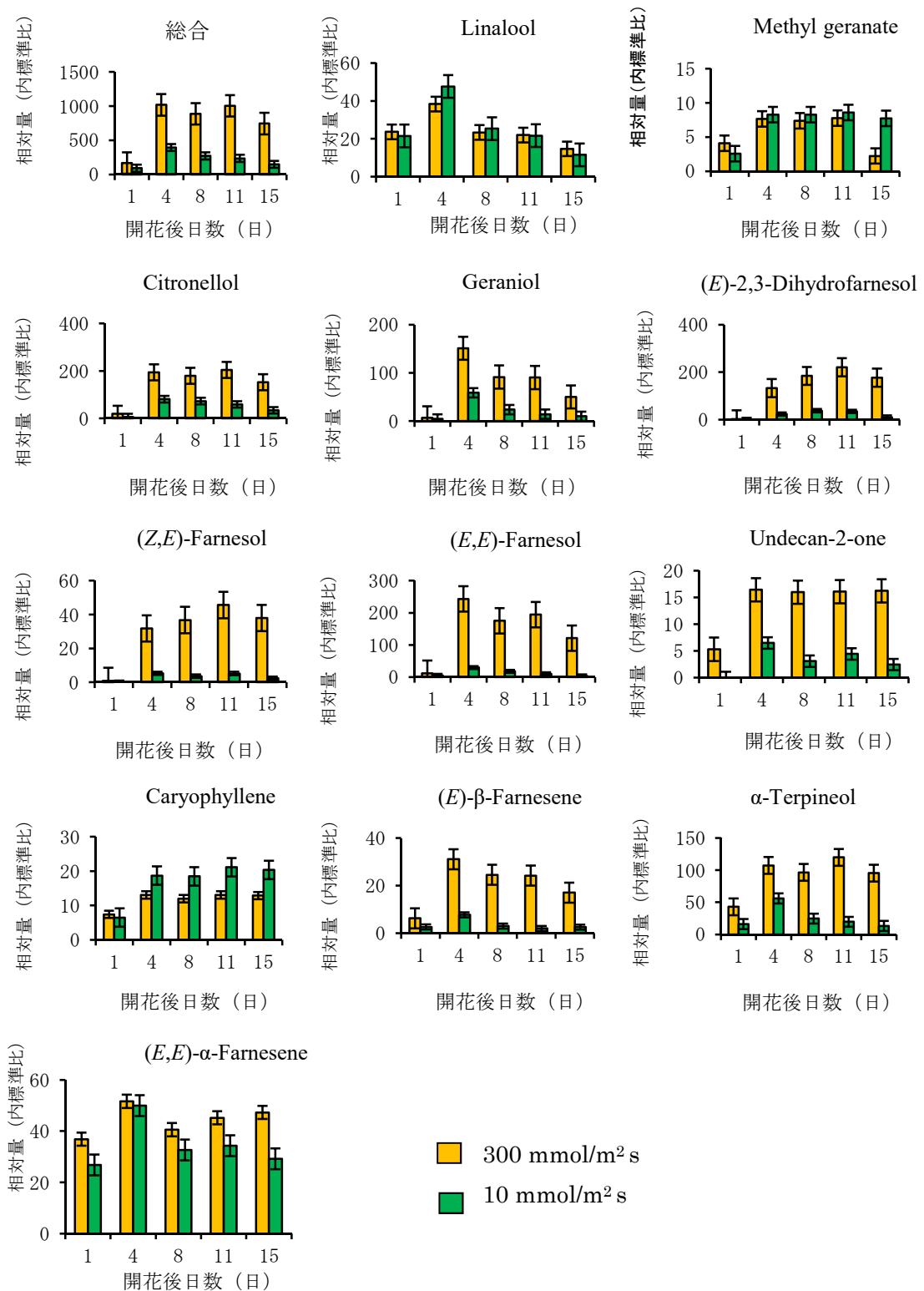


図 31 香りシクラメンからの香気成分発散に対する光強度の影響
エラーバーは標準誤差

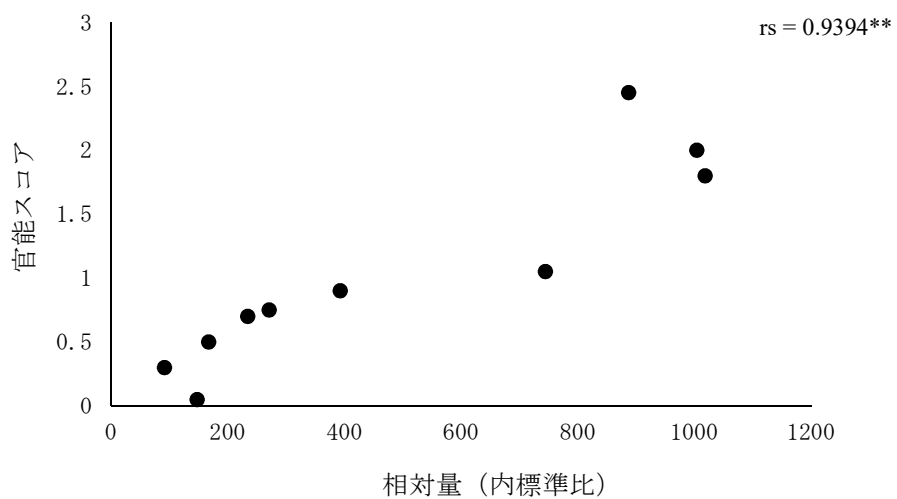


図 32 総香気成分量と官能検査による香気強度の関係

** : スピアマンの順位相関検定による有意差 (1%水準) あり

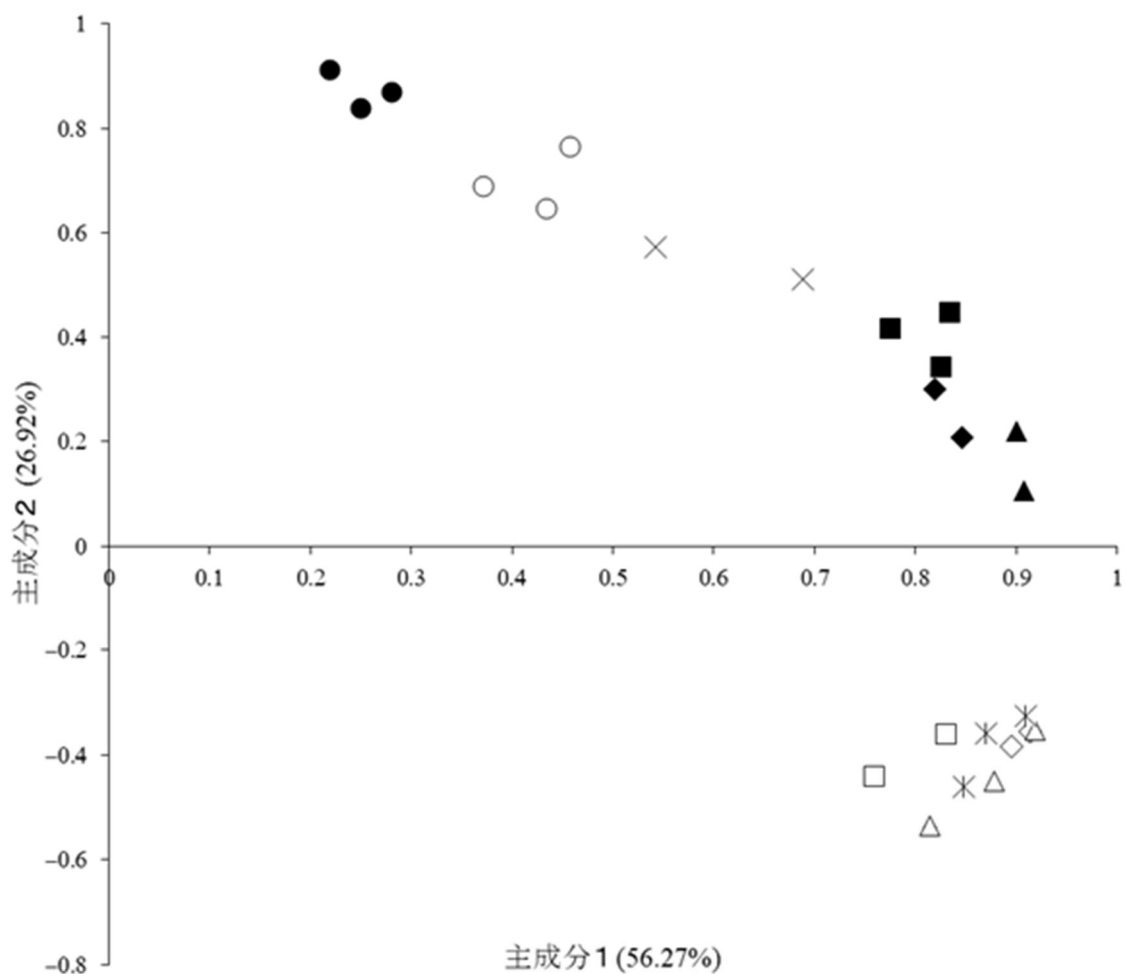


図 33 高光強度および低光強度における香り成分発散量の主成分分析

○ 開花 1 日目, 高光強度; □ 開花 4 日目, 高光強度; △ 開花 8 日目, 高光強度; ◇ 開花 11 日目, 高光強度; * 開花 15 日目, 高光強度; ● 開花 1 日目, 低光強度; ■ 開花 4 日目, 低光強度; ▲ 開花 8 日目, 低光強度; ◆ 開花 11 日目, 低光強度; × 開花 15 日目, 低光強度

主成分 1 の主成分得点は Citronellol (7.831), (*E*)-2,3-Dihydrofarnesol (3.764), Undecan-2-one (-4.231), Methyl geranate (-4.130). 主成分 2 の主成分得点は(*E,E*)- α -Farnesene (5.081), Linalool (3.604), (*E*)-2,3-Dihydrofarnesol (-3.890), (*E,E*)-Farnesol (-3.386)

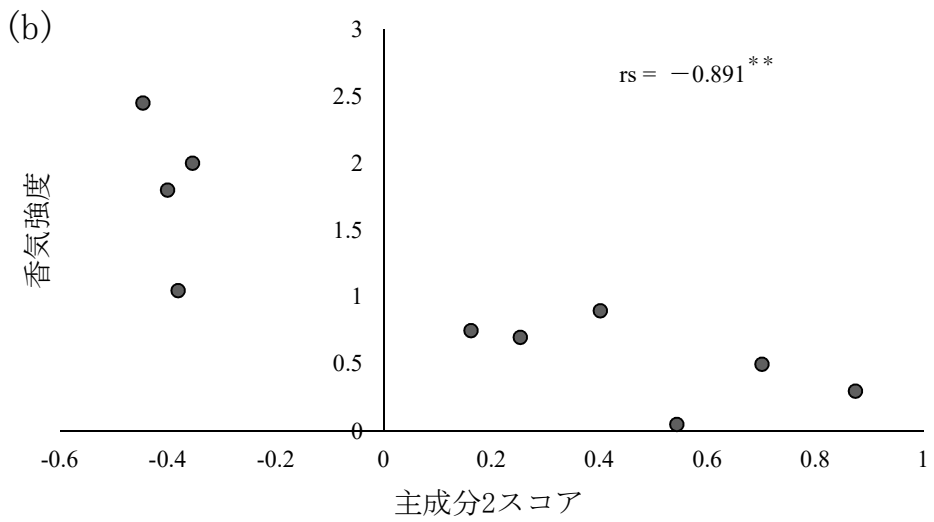
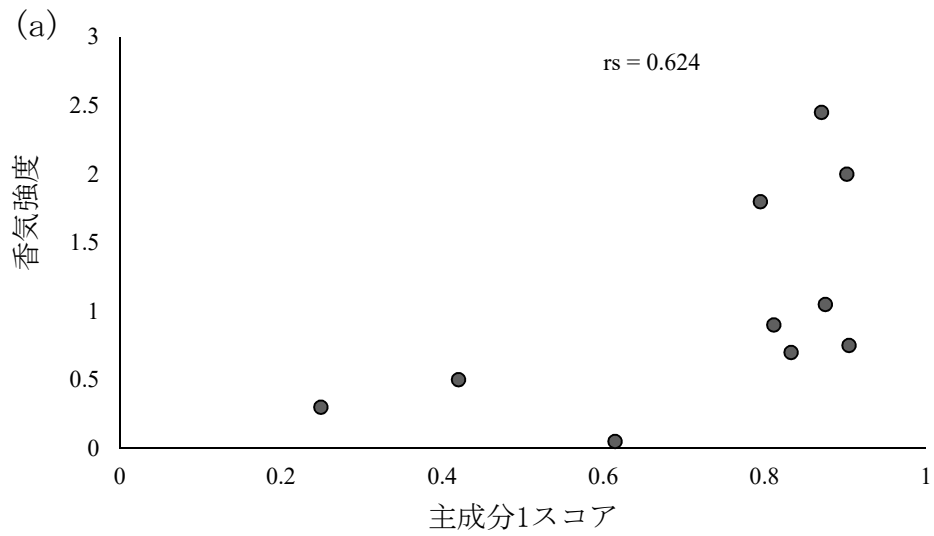


図 34 主成分分析スコアと香気強度との順位相関

(a) 主成分 1 スコアとの順位相関

(b) 主成分 2 スコアとの順位相関

** : スピアマンの順位相関検定による有意差 (1%水準) あり

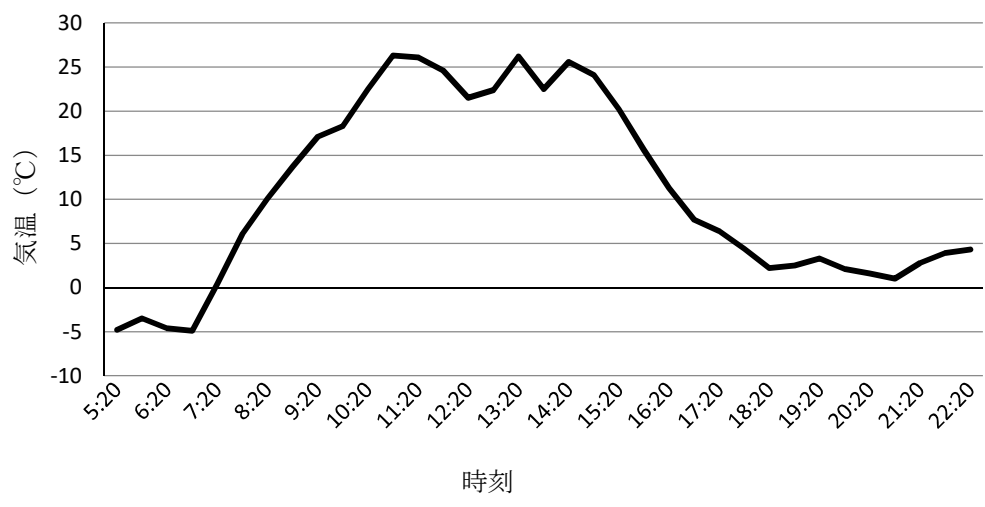


図 35 香気成分捕集日の時刻別室内気温

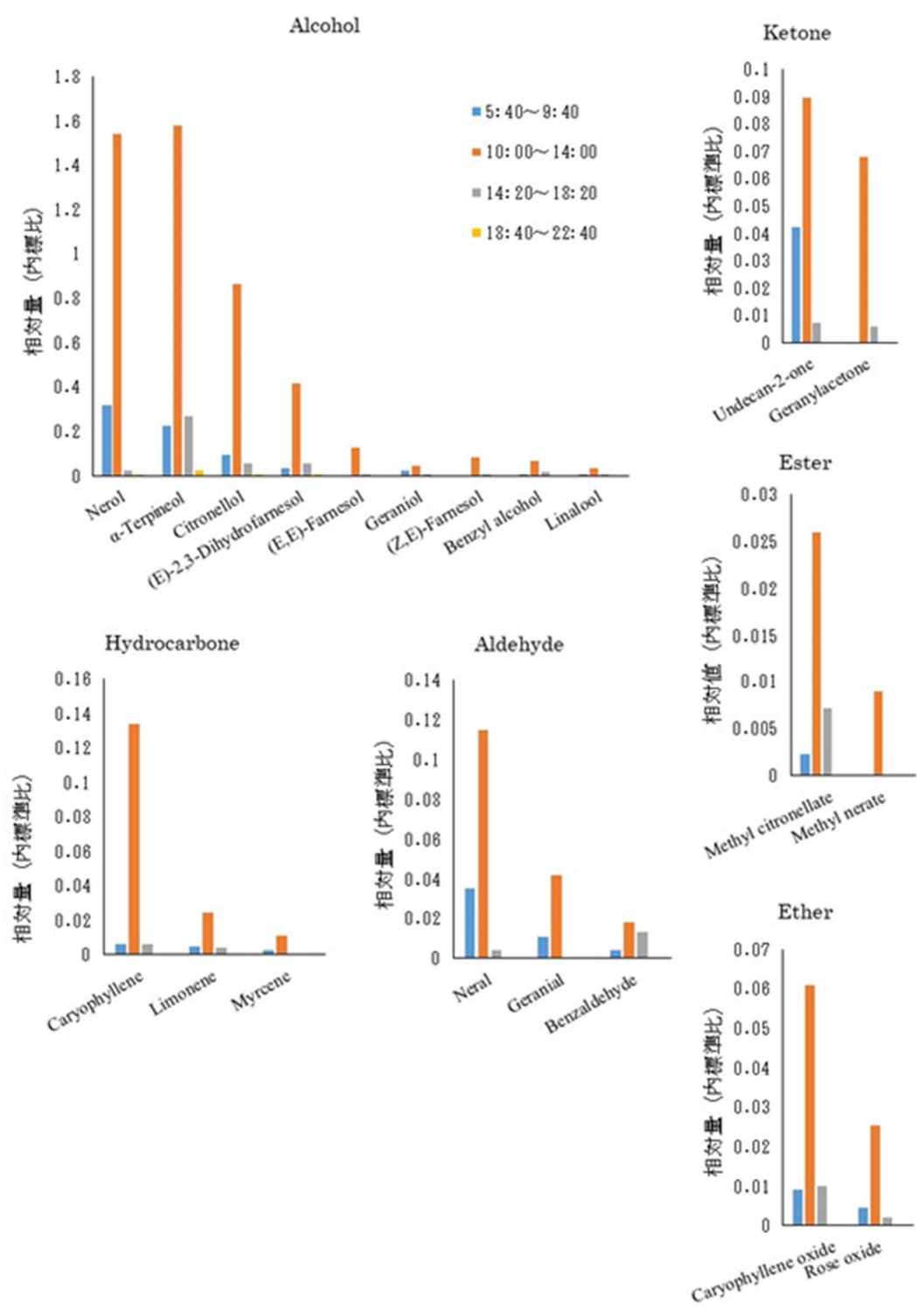


図 36 香気捕集時間帯別の主要香気成分相対量

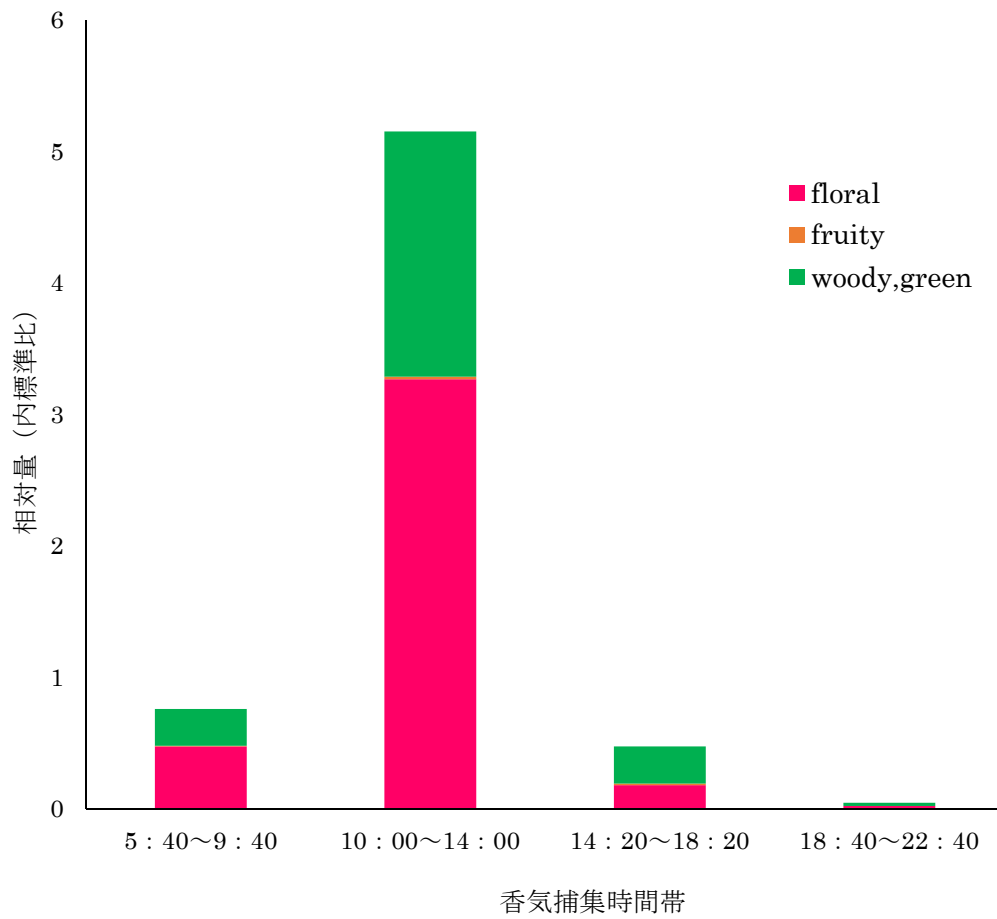


図 37 香調別香気成分発散相対量の推移

表 29 ハウスおよび室内での調査時の気温、湿度、光強度

		開花後日数 (日)								
		1	3	6	8	10	13	15	17	21
気温 (°C)	ハウス	21.3	25.5	21.2	19.8	19.4	18.1	19.4	17.9	13.7
	室内	18.5	19.3	18.9	17.8	17.3	16.2	16.1	15.8	15.7
湿度	ハウス	38	18	30	58	20	31	15	38	80
	室内	52	41	55	65	36	46	35	55	68
光強度 ($\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$)	ハウス	275	302	359	212	290	365	301	288	63
	室内	4	8	6	1	3	5	5	4	2

表 30 インキュベータ内での調査時の温度

	光強度 ($\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$)	開花後日数 (日)						
		1	4	8	11	15	18	22
温度 (°C)	300	23.0	24.2	23.7	23.3	23.6	23.9	23.2
	10	21.4	21.9	22.0	22.3	21.4	22.0	21.9

表 31 主要香気成分量と官能検査による香気強度との順位相関

	rs	有意差
Linalool	0.394	
Citronellol	0.927	**
Geraniol	0.915	**
(<i>Z,E</i>)-Farnesol	0.891	**
(<i>E,E</i>)-Farnesol	0.939	**
(<i>E</i>)-2,3-Dihydrofarnesol	0.903	**
Methyl geranate	-0.006	
α -Terpineol	0.927	**
Undecan-2-one	0.83	**
Caryophyllene	-0.127	
(<i>E</i>)- β -Farnesene	0.867	**
(<i>E,E</i>)- α -Farnesene	0.733	*

rs : スピアマンの順位相関係数; ** $\alpha = 0.001$, * $\alpha = 0.05$.

表 32 香調に基づく香気成分の分類

香気特徴		
Floral	Fruity	Woody,green
Methyl citronellate	Benzaldehyde	Caryophyllene
Geranylacetone		Humulene
Citronellal		6-Methyl-5-hepten-2-one
Benzyl alcohol		Undecan-2-one
Citronellol		α -Terpineol
Geraniol		Rose oxide
Linalool		
Nerol		
(<i>E</i>)-2,3-Dihydrofarnesol		
(<i>E,E</i>)-Farnesol		
(<i>Z,E</i>)-Farnesol		

総合考察

シクラメンは人気のある鉢花であり、東京都においても主要作物である。生産者の温室を訪れる様々な顧客の嗜好に応じるために、生産者からは新たなオリジナル品種の育成が要望されている。一般的に、花の形質の主要な育種目標として色・形・香りがあげられる。シクラメンでは花色、形に対する品種改良が主流であり、芳香性品種はあまり多くない。そのため、香りのバラエティーを増やすことはシクラメンの育種上重要である。花の育種では、香りをもつ近縁種を用いて種間雑種を作出することにより栽培品種に芳香性を付与する試みも進められている (Kishimoto et al., 2013)。シクラメンについては、Ishizaka and Uematsu (1995) は種間雑種作出によって芳香性品種を育成している。交配親として使用している近縁種は *C. purpurascens* 1 種であり、品種数は数種にとどまっている。より複雑な香りを付与するためには、シクラメンにおいても多様な近縁種の利用が考えられる。

近縁種の香気成分の多様性を調査している事例は多い。大部分はその結果から種分化の考察をしたり、訪花昆虫との関係を考察している文献となつてはいるが (Feulner et al., 2009, 2011, Jungens and Gottsberger, 2003, Jurgens et al., 2010, Dobson et al., 1997, Nowak, 2005, Knudsen et al., 2001), 結果として得られている成分データから有望な育種素材の特定もされている (高津ら, 2002, Kishimoto et al., 2011, Sun et al., 2015)。

今回の調査の結果から、*C. purpurascens* が最も芳香性成分を豊富に保有し、同じ両親を用いた交配でも多様な種間雑種個体群を得ることができることから、芳香性付与のためには優れた育種素材であることが明確になった。一方、近縁種の中には、*C. purpurascens* では認められない生合成系や芳香性成分を持つ種や、*C. purpurascens* でも保有しているが、その成分相対量が非常に高い種が存在しており、これらの種も有用な育種素材であると考えられた。ただし、これらの種は $2n=30$ であり、栽培品種 *C. persicum* ($2n=48$) との交配による種間雑種作出は困難であるため、この点の解決が必要である。

本研究では、*C. libanoticum*, *C. cyprium*, *C. pseudibericum* と栽培品種との間で、胚珠培養によって種間雑種を作出できることを明らかにした。しかし、*C. pseudibericum* との種間雑種は他 2 種に比べて胚珠培養による種間雑種作出が容易ではなく、開花個体も得られなかった。*C. libanoticum*, *C. cyprium* は *Cyprium* グループに属しており、*C. pseudibericum* は *Pseudibericum* グループである。この遺伝的類似度の差が栽培品種との種間雑種作出の難易に影響している可能性がある。また、有用な芳香性成分をもつ *C. cilicium*, *C. alpinum* と栽培品種の間では今回、種間雑種を得ることができなかった。山下・高村 (2007) は *C. mirabile* について交配後 7 日目、28 日目の胚珠を用い、培地に添加する糖を変えることで種間雑種を得ている。Anika et al. (2012) は *C. coum* を用いて、細胞融合による種間雑種を作出している。*C. cilicium* は、*C. mirabile* と同じ *Cilicium*

グループである。 *C. alpinum* は *C. coum* と同じ グループである。 これらのことから、より早期の胚珠を用いた胚珠培養や、培地条件の改良、細胞融合の利用などにより、将来的には *C. cilicium*, *C. alpinum* についても種間雑種が得られる可能性がある。 $2n=30$ の近縁種は、花や葉の形態について栽培品種にはない魅力的な特徴をもつ種が多い (表 33)。 これらの種と栽培品種の種間雑種を作出することにより、芳香性成分のみならず、形態的にも新規形質を付与できる可能性がある。 また、 $2n=30$ の近縁種には *C. libanoticum* × *C. cyprium*, *C. libanoticum* × *C. pesdibericum*, *C. coum* × *C. alpinum* のように種間での自然交配が可能な種も存在している。 将来的には、利用されてこなかった近縁種と栽培品種との多様な種間雑種を多数作出し、倍加によって稔性を回復させ、異なる組み合わせの種間雑種間で相互に交配を行うことで、シクラメンの変異性を大きく拡大できると考える。

カーネーション (Kishimoto et al., 2013) や *Ipomopsis* (Bischoff et al., 2014) では香気成分は単純なメンデル遺伝ではなく、F1 で両親より量が増える場合があるとしており、ヘテロシスの可能性が示唆されている。 フリージア (Fu et al., 2007) では両親では保有しているが F1 で検出されない成分があったり、両親では存在が認められないのにもかかわらず F1 で現れる成分が確認されたとしている。 Tea Rose (Cherri-Martin et al., 2007) では、後代で認められる一部の成分については両親の中間値ではなく、欠失や低減化が認められた。 このように香気成分の遺伝や発現は単純ではない。 今回明らかにしたようにシクラメン属には栽培品種が保有していない香気成分を保有している近縁種があり、新たな生合成系や酵素を保有する近縁種を交配親として利用することで、予測しなかった新たな芳香性個体を得ることができる可能性がある。 また、シクラメンは他殖性植物であることから、香気成分の生合成系に関与する遺伝子は、同じ種の各個体内においてもヘテロで保有されている可能性が高い。 そのため栽培品種と *C. purpurascens* との交配において、異なるヘテロ性を持つ個体間での交配により、生合成系が補完され、香気に関して多様な個体群が得られたと推測される。

ところで、本研究では、*C. purpurascens* が保有していない新規香気成分の導入や、相対量が非常に高く、香気バランスに変化をもたらすと考えられる成分の導入を中心に論じてきたが、少量の成分の導入が香気印象に影響を与えるとする報告がある (Miyazawa et al., 2008, 蓬田 2015)。 このことから、種間雑種作出により同時に導入される少量の香気成分が、芳香性の多様性に寄与する効果もあると考えられる。 シクラメンの芳香性に関する多様性付与はまだ大いなる可能性があると考えており、さらなる研究推進が必要である。

植物の揮発性成分の発散は土壌水分や湿度、温度、光の強さ、肥料などの影響を受けるといわれている (Dudareva et al., 2006)。 揮発性成分発散に影響を及ぼす重要な環境要因として、温度、光の影響を論じている報告は多い。 温度については、シロツメクサや (Jakobsen et al., 1994)、ペチュニアでは (Sagae et al., 2008)、高温条件下で香気発

散が増加したとの報告がある。Can'ani et al. (2015)は *Petunia* × hybrid の香気発散は、高温で減少すると報告している。ユリ ‘Siberia’ や (Hu et al., 2013) 数種類の地中海性植物では (Farré-Armengol et al., 2014) は、ある一定範囲内では香気発散は温度と正の関係がみとめられるとしている。光の影響については、シロツメクサでは高光強度では花からの香気発散が増加するという報告がある (Jakobsen et al., 1994)。ユリ ‘Siberia’ (Hu et al., 2013)では、香気発散が最大になる適正光強度があるとしている。Dudareva et al. (2003) はキンギョソウ から発散する(*E*)- β -Ocimene と Myrcene の発散量について、継続的な暗黒条件に置いた場合よりも、継続的な光条件に置いた場合のほうが増加することを見出している。温度や光はこのように香気発散に対して大きく影響することから、重要な環境要因の一つであるとされている (Dudareva et al., 2006)。香気発散は、開花のステージによっても変動するという報告がある。キンギョソウ (Kolossova et al., 2001)、バラ (Shalit et al., 2003, Rusanov et al., 2011)、アッサムニオイザクラ (Li et al., 2016)、イランイラン (Qin et al., 2014)、Vanda Mimi Palmer (Mohd-Hairul et al., 2010)からの香気発散量は、花のステージによって変化することがわかっている。以上のように、様々な植物について、香気発散は温度、光による影響を受け、開花ステージによっても変動するという報告がある。今回、香りシクラメンからの香気成分発散は温度の影響を受け、35°Cでは発散量が減少することが明らかになった。また、香気成分によって、温度に対する反応は異なることが分かった。光については、香りシクラメンを用いて行った本研究でも、官能検査によって評価した香気強度や、GC/MSによって分析した香気総発散量は、低光強度条件のほうが低くなり、香気発散に光強度が影響することが明らかになった。光に対する反応は個々の成分によって異なるとする報告がある (Hu et al., 2013)。香りシクラメンでも光によって発散量が大きく影響される成分と、影響を受けにくい成分があり、また、すべての成分が低光強度条件で減少するわけではなかった。

本研究により、香りシクラメンの香気発散に対する温度と光強度の影響が明らかになった。温度に関しては、15°Cから 25°Cまでの範囲であれば総香気発散量には影響がなく、適正であると考えられる。ただし、15°Cのほうが、主要な芳香性成分である Nerol, Geraniol の発散量は多かった。このことから、15°Cに近いやや低めの温度条件での展示、販売のほうが、より望ましい。低光強度条件である室内展示では、香りシクラメンの香気強度が徐々に減少することから、香気発散の面から考えられる展示可能期間は 10 日程度である。シクラメンは元来弱光条件に弱く、陽の当たりにくい屋内では葉が黄化し、開花数が減少して観賞期間が短くなると言われている。駒形ら (2002) は、低照度条件下で展示したシクラメンは 10 日目に葉の黄化や開花数の減少などの品質低下が起り始め、特に照度が低い条件では 15 日目に著しい差が生じるとしている。今回、室内展示したシクラメンで認められた、香気発散の面での展示の限界は、こうした報告にある形態上のシクラメン観賞期間の限界に一致していた。

本実験において、ハウス内で維持した香りシクラメンでは、香気強度は減少せず、香気発散は継続した。ハウス内の光強度は $300 \mu\text{mol} / \text{m}^2\text{s}$ 前後で推移していた。このことから、 $300 \mu\text{mol} / \text{m}^2\text{s}$ 程度になるように LED などを利用して補光することにより香気発散の低下を防ぐことが可能であると推測された。光質が香気発散に影響するという報告もある (Colquhoun et al., 2013)。補光を行う際は、より効果のある光質を選択すべきと考える。ところで、香気発散を継続させるためにはシクラメンの植物体自体が健全な生育を持続することが必要である。また、開花数も多いほうが、香気発散量は増加すると考えられる。シクラメンでは日長処理や光質の種類が、開花期間や生育量、開花数に影響を及ぼすという報告がある。8 時間日長より 16 時間日長のほうが早く開花し、生育も促進する (Rhie et al., 2006)。fluorescent light よりも blue plus red LED のほうが開花数を増加させる効果がある (Heo et al., 2003)。日長を延長する方法としては、cyclic lighting や夜間の光中断の報告があり (Kang et al., 2008)、光中断処理によって開花の促進が認められている (Oh et al., 2008, 2013)。このようにシクラメンの生育や開花にポジティブな効果がある光処理方法を取り入れることも有効であると考えられる。

バラにおいて Phenylpropanoids, Lipid derivatives, Terpenoids の揮発性成分のステージごとの生産パターンやその生産量は 品種によって異なることが示されている (Gutierrez, 2009)。シトラスの花からの揮発成分発散は、シトラスの系統とステージによって大きく異なる。たとえば、開花が進むにつれて、いくつかの系統では Linalool が減少する。一方、ほかの系統では開花が進むにつれて Linalool は増加する。同様に Limonene と β -Pinene はいくつかの系統では未開花の花で最も量が多いが、ほかの系統では開花盛期に最も多く生産される。(Azam et al., 2013)。香気発散は、開花ステージによって変動するが、変動にはこうしたバラ、シトラスの例のように品種・系統間差がある。より長期間香気発散が継続する品種の育成は、展示期間を延長するための有効な手段である。香りシクラメンにおいても、香気発散の継続性の高い品種の育成が必要と考えられる。本研究の結果から、香りシクラメンの場合は、GC/MS による成分分析により検出された香気成分相対量は、官能評価と関連性が高いと結論づけられた。今後、芳香性品種の育成を進めるうえで、GC/MS による成分分析の結果に基づく選抜が有効であることが、実証できたと考える。

香気成分を持続的に発散させ、観賞期間や販売時間を継続させるためにはどのような方法を用いれば良いか、またどのような品種を開発すべきかについては、今後のさらなる研究が必要である。

本研究の成果は、芳香性をはじめとするシクラメン育種の変異性を拡大する可能性を提供するものであり、また、香気発散に影響を及ぼす要因の究明は、良質な香気発散を継続して発現させる効果的な方法の開発に供する基礎的な知見となる。

表 33 供試した種の主要香気成分と種間雑種作出可能性

種 (染色体数) group of Cyclamen ^a	香気強度	主要香気成分	栽培品種との 種間雑種作出	備考 (花き特徴, 他種との交配可能性 ^a)
<i>C. repandum</i> (2n=20) Repandum group	中	Geranylacetone (フレッシュフローラルグリーン)	可 ^b	<i>C. creticum</i> と交配可
<i>C. creticum</i> (2n=20) Repandum group	中	Heptadecan-2-one β-Bisabolene (ミューゲ様フローラルグリーン、 アーシー)		<i>C. repandum</i> と交配可
<i>C. cilicium</i> (2n=30) Cilicium group	中	Phenylacetaldehyde 2-Phenylthyl alcohol (ヒアシンス系アルデヒド)	不可 ^e	花口に模様
<i>C. alpinum</i> (2n=30) Coum group	中	Phenylacetaldehyde 2-Acetyl-N-methylaniline 2-Phenylthyl alcohol (ヒアシンス系アルデヒド)	不可 ^e	花口に模様 丸みを帯びた花 <i>C. coum</i> と交配可
<i>C. libanoticum</i> (2n=30) Cyprium group	中	Geranylacetone (ゲラニルアセトン系)	可 ^e	花口に模様 <i>C. cyprium</i> と交配可 <i>C. pseudibericum</i> と交配可
<i>C. cyprium</i> (2n=30) Cyprium group	中	Geranylacetone Geraniol (レモンミュゲ)	可 ^e	花口に模様 <i>C. libanoticum</i> と交配可
<i>C. pseudibericum</i> (2n=30) Pseudibericum group	中	Geranylacetone Geraniol Nerol (レモンミュゲ)	可 ^e	花口に模様 <i>C. libanoticum</i> と交配可
<i>C. purpurascens</i> (2n=34) Purpurascens group	強	Citronellol, Geraniol, Nerol (E)-2,3-Dihydrofarnesol Methyl citronellate (フローラルフルーティ)	可 ^d	
<i>C. persicum</i> (2n=48) Persicum group	中	Geraniol Nerol (E)-2,3-Dihydrofarnesol (ローズ様フローラル)	—	
<i>C. mirabile</i> (2n=30) Cilicium group	弱	Butyl acetate, Calamenene Octan-1,4-olide (ココナッツ様フルーティ)	可 ^e	花口に模様
<i>C. hederifolium</i> (2n=34) Hederifolium group	弱	Geranylacetone Anisole Citronalol (グリーンアルデヒド)	可 ^f	<i>C. africanum</i> と交配可 <i>C. graecum</i> と交配可
<i>C. africanum</i> (2n=34) Hederifolium group	弱	Anisole (Z)-Linalool-3, 6-oxide Citronellol, Geraniol (現代ローズ)	可 ^g	<i>C. hederifolium</i> と交配可
<i>C. graecum</i> (2n=84) Graecum group	弱	Undecan-2-one (オレンジ様アルデハイド)	可 ^h	<i>C. hederifolium</i> と交配可
<i>C. rohlsianum</i> (2n=96) Rohlsianum group	弱	Butyl acetate Nonanal (アルデヒド調)	可 ⁱ (4倍体性品種と 自然交配可)	
<i>C. coum</i> (2n=30) Coum group	無	Butyl acetate Benzaldehyde	可 ^j	花口に模様 丸みを帯びた花 <i>C. alpinum</i> と交配可
<i>C. parviflorum</i> (2n=30) Coum group	無	Butyl acetate Isoamyl acetate		丸みを帯びた花
<i>C. balearicum</i> (2n=20) Repandum group	無	Butyl acetate Benzaldehyde		

a: Grey-Wilson (2002), b: 石坂・植松 (1990), c: 本研究による, d: Ishizaka et al. (1995), e: 山下・高村 (2007), f: Ishizaka et al. (1992), g: Takamura et al. (2002), h: Ishizaka (1996), i: Ishizaka et al. (2002), j: Anika et al. (2012)

摘要

シクラメンでは、種間雑種作出による芳香性品種が数品種育成されているが、交配親には近縁種の *Cyclamen purpurascens* のみが使われている。今後、多様な芳香性品種を作出することを目的として、17 種のシクラメン近縁種について香气成分を分析し、これらの変異性を明らかにした。14 種の近縁種から芳香性成分を検出し、特にフローラルの要素の大きい近縁種 *C. libanoticum*, *C. cyprium*, *C. pseudibericum*, *C. purpurascens*, *C. cilicium*, *C. alpinum* およびフルーティーの要素の大きい近縁種 *C. mirabile* は育種素材として利用価値が高いと考えられた。このうち、種間雑種の報告例の無かった近縁種である *C. libanoticum*, *C. cyprium*, *C. pseudibericum* と栽培品種との種間雑種を作出することができた。目的とした芳香性や花口部位の特徴は、今回の種間雑種では導入が認められなかったが、花、葉、開花形質に両親には見られない新しい形質が現れ、これらの形質の活用はシクラメン品種に多様性を付与できる可能性があると考えられた。さらに、香气成分を豊富に保有する近縁種 *C. purpurascens* と栽培品種 (*C. persicum*) との種間雑種を作出し、得られた種間雑種の香气特性を調査した。この結果、*C. purpurascens* と栽培品種の種間雑種において、同じ交配親の種間雑種であっても、様々な香气成分の変異をもつ種間雑種群を得られることが明らかになった。具体的には、Citronellol, Nerol, Geraniol の存在比にバリエーションのある種間雑種群や、フローラル成分やフルーティー成分を様々な比率で保有する種間雑種群を得ることができた。

一般に、香りシクラメンは、長期間室内展示をすることで、日が経つにつれて香气が弱くなってくることが指摘されていた。この要因として、展示場所の環境による香气発散への影響が考えられる。その対策には、室内環境が香气発散に及ぼす影響を明らかにする必要がある。本研究は、展示中にうける環境の影響として特に温度と光強度に着目し、香りシクラメンの香气発散に及ぼす影響を、GC/MS による分析と官能検査の両手法を用いることにより明らかにした。さらに、香气発散の日変化特性についても調査した。香りシクラメンでは、35°C の高温条件では、香气発散が減少することが判明した。官能検査の結果、ハウス内の対照個体では、調査期間中を通じて、ほぼ同程度の香气強度を維持していたが、室内展示していた供試個体の香气強度は、開花後 13 日目以降では、香气強度は低下し、ハウス内の対照個体との間で香气強度に有意差が認められた。従って、香りシクラメンを展示する場合は、周囲の温度条件が 15~25°C の適正温度内であるように調整する必要がある。香气発散の面から、展示可能期間は 10 日程度であると考えられる。日変化については、午前中はフローラルな香りが強いが、午後になると、ウッディーグリーンな香りの割合が大きくなることにより質も低下することも明らかになった。香气成分総量のほか、Citronellol, Geraniol, (Z,E)-Farnesol, (E,E)-Farnesol, (E)-2,3-Dihydrofarnesol などの成分が香气強度と順位相関が高かったことから、これらの主要成分の発散量は香气強度に影響を及ぼすことが明らかになった。このことから、香

りシクラメンの場合は、GC/MSによる成分分析により検出された香気成分相対量は、官能評価と関連性が高いと結論づけられた。

本研究の成果は、芳香性をはじめとするシクラメン育種の変異性を拡大する可能性を提供するものであり、また、香気発散に影響を及ぼす要因の究明は、香りシクラメンからの良質な香気発散を継続して発現させる効果的な方法の開発に供する基礎的な知見となる。

Breeding of scented cyclamen interspecific hybrids and influence of environment on their fragrant traits

Summary

All the currently available interspecific scented cyclamen were bred by crossing *Cyclamen persicum* with only a wild species, *Cyclamen purpurascens*. To develop cyclamen with a wider variety of fragrances, we clarified the diversity of volatile compounds emitted from the flowers of 17 wild cyclamen species. We found that 14 of the wild species emitted fragrant compounds. In particular, *Cyclamen pseudibericum*, *C. cyprium*, *C. libanoticum*, *C. purpurascens*, *C. cilicium* and *C. alpinum* emitted floral compounds, and *C. mirabile* emitted fruity compounds, these species are useful for breeding of scented cyclamen. In this investigation we found it is possible to produce interspecific hybrids between cyclamen cultivars and *C. libanoticum*, *C. cyprium* and *C. pseudibericum* without reports. The fragrance and marking at the mouth of collora, it is the purpose of this investigation, could not introduce into hybrids. However, new trait of flower, leaf and flowering period were seen which did not seen in their parents. To apply these traits for breeding we are able to add more variety to cyclamen cultivars. We produced interspecific hybrids between two *C. persicum* cultivars and *C. purpurascens* (which emitted the greatest number of volatile compounds) and analysed the scent characteristics of the resulting hybrids. We found that the hybrids varied in scent characteristics, even when the same parents were crossed; for example, we obtained hybrids with various proportions of Citronellol, Nerol and Geraniol and various ratios of floral, rosy-scented and fruity, coconutty-scented compounds.

The scent of scented cyclamen flowers weakens when the plants are displayed for long periods, and this phenomenon is affected by the environment in which the plants are displayed. Counteracting environmental effects on scent intensity requires an understanding of floral scent emission during display. Here, we used gas chromatography–mass spectrometry and sensory analysis to evaluate the influence of temperature and light intensity on floral scent emission from scented cyclamen kept indoors and in a greenhouse. Furthermore we investigated diurnal change of volatile compounds. The emission of volatile compounds decreased at 35°C. For the greenhouse cyclamen, odour intensity was nearly constant throughout the study period. In contrast, the odour intensity of the indoor plants had decreased by 13 days after flowering, and the odour intensities of the indoor and greenhouse cyclamen differed significantly. Therefore it is necessary to control the temperature properly between 15-25°C.

Furthermore, sensory analysis indicated that 10 days is the limit for indoor display from the point of view of scent emission. About diurnal change, during the morning the floral scent is stronger, but in the afternoon the ratio of woody-green scent increased and the quality of scent decreased. Rank correlation analysis showed a positive correlation between odour intensity as determined by sensory analysis and the total amount of volatile compounds and each compounds such as Citronellol, Geraniol, (*E,E*)-Farnesol, (*E,E*)-Farnesol and (*E*)-2,3-Dihydrofarnesol released as determined by gas chromatography–mass spectrometry. The sensory analysis results could be explained in terms of the emission amounts of odour compounds.

The results of our research provide the new variation of cyclamen breeding, and the information on the factors affecting volatile emission will support the development of effective methods for continuous emission of high quality scented compounds from scented cyclamen.

謝辞

本研究を取りまとめるにあたって、筑波大学大学院生命環境科学研究科教授 大澤良博士には懇切なご指導、ご校閲および終始暖かい激励を賜った。ここに記して、深甚なる謝意を表す。また、筑波大学生命環境科学研究科講師 松山茂博士、千葉大学大学院園芸学研究科名誉教授 三位正洋博士、千葉大学大学院園芸学研究科名誉教授 西野栄正博士、千葉大学大学院園芸学研究科助教 菊池博士、高砂香料工業株式会社 研究開発本部 矢口善博氏、野原功氏、春日久栄氏、小林剛氏、草野友美氏、株式会社インプラントイノベーションズ 寺川輝彦博士には、実験に関しご協力をいただくとともに有益なご助言をいただいた。筑波大学大学院生命環境科学研究科教授 菅谷純子博士、筑波大学大学院生命環境科学研究科准教授 中山真義博士、筑波大学大学院生命環境科学研究科助教 吉岡洋輔博士には終始暖かいご指導とご鞭撻を賜った。国立研究開発法人 農業・食品産業技術研究機構 野菜花き研部門 大久保直美博士および（公財）東京都農林総合研究センター所長 望月龍也博士には有益なご助言とご指導をいただいた。以上の各位に対し、心から感謝申し上げます。

引用文献

- Anika, N., S. Prange, B. Melanie, J. Meiner, M. Serek and T. Winkelmann. 2012. Interspecific somatic hybrid between *Cyclamen persicum* and *C. coum*, two sexually incompatible species. *Plant Cell Reports*. 31:723-735.
- Azam, M., M. Song, F. Fan, B. Zhang, Y. Xu, C. Xu and K. Chen. 2013. Comparative analysis of flower volatiles from nine citrus at three blooming stages. *International Journal of Molecular Sciences*. 14: 22346-22367.
- Bischoff, M., A. Jurgens and D. R. Campbell. 2014. Floral scent in natural hybrids of *Ipomopsis* (Polemoniaceae) and their parental species. *Annals of Botany*. 113: 533-544.
- Bont, de D., and J.Grimshaw. 2013. Development of *Cyclamen persicum* cultivars. p. 373-414. In: Mathew B. (eds.). *Genus Cyclamen in Science, Cultivation, Art and Culture*. Royal Botanic Garden, Kew, Surrey, Kew Publishing. UK.
- Cherri-Martin, M., F. Jullien, P. Heizmann and S. Baudino. 2007. Fragrance heritability in hybrid Tea roses. *Scientia horticultrae*. 113:177-181
- Clery, R., T. Wiltshire and D. Lelievre. 2013. The scent of cyclamen. p. 202-206. In: Mathew B. (eds.). *Genus Cyclamen in Science, Cultivation, Art and Culture*. Royal Botanic Garden, Kew, Surrey, Kew Publishing. UK.
- Cna'ani, A., J. K. Muhlemann, J. Ravid, T. Masci, A. Klempien, T. T. H. Nguyen, N. Dudareva, E. Pichersky and A. Vainstein. 2015. *Petunia*×*hybrida* floral scent production is negatively affected by high-temperature growth conditions. *Plant Cell and Environment*. 38: 1333-1346.
- Colquhoun, T. A., M. L. Schwieterman, J. L. Gilbert, E.A. Jaworski, K.M. Langer, C.R. Jones, G.V. Rushing, T.M. Hunter, J. Olmstead, D.G. Clark and K.M. Folta. 2013. Light modulation of volatile organic compounds from *petunia* flowers and select fruits. *Postharvest Biology and Technology*. 86: 37-44.
- Dobson, H. E. M., J. Arroyo, G. Bergstrom and I.Groth. 1997. Interspecific variation in floral fragrances within the genus *Narcissus* (Amaryllidaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*. 25: 685-706.
- Dobson, H. E. M. 2006. Relationship between floral fragrance composition and type of pollinator. p.147-198. In: Dydareva N., Pichersky E. (eds.). *Biology of floral Scent*. CRC Press Taylor & Francis Group. USA.
- Du, X., A. Plotto, E. Baldwin and R. Rouseff. 2011. Evaluation of volatiles from two subtropical strawberry cultivars using GC-Olfactometry, GC-MS odor activity values, and sensory analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 59: 12569-12577.
- Dudareva, N., D. Martin, C. M. Kish, N. Kolosova, N. Gorenstein, J. Faldt, B. Miller and J.Bohlmann. 2003. E- β -ocimene and myrcene synthase genes of floral scent biosynthesis in

- snapdragon: function and expression of three terpene synthase genes of a new terpene synthase subfamily. *The Plant Cell*. 15: 1227-1241.
- Dudareva, N, F. Negre, D. A. Nagegowda and I. Orlova. 2006. Plant volatiles: recent advances and future perspectives. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 25: 417-440.
- Farré-Armengol, G., I. Filella, J. Llusia, U. Niinemets and J. Penuelas. 2014. Changes in floral bouquets from compound-specific responses to increasing temperatures. *Global Change Biology*. 20: 3660-3669.
- Feulner, M., F. Schuhwerk and S. Dotterl. 2009. Floral scent analysis in *Hieracium* subgenus *Pilsella* and its taxonomical implications. *Flora*. 204: 495-505.
- Feulner, M., F. Schuhwerk and S. Dotterl. 2011. Taxonomical value of inflorescence scent in *Hieracium* s. str. *Biochemical Systematics and Ecology*. 39: 732-743.
- Fu, Y., X. Gao, Y. Xue, Y. Hui, F. Chen, Q. Su and L. Wang. 2007. Volatile compounds in the flowers of *Freesia* parental species and hybrids. *Jornal of Integrative Plant Biology*. 49: 1714-1718.
- Gottlieb, L. D. and V. S. Ford. 1988. Genetic studies of the pattern of floral pigmentation in *Clarkia gracilis*. *Heredity*. 60: 237-246.
- Grey-Wilson, C. 2002. *Cyclamen*. A guide for Gardeners, Horticulturists and Botanist; 2nd (eds.) B. T. Batsford Ltd, London UK.
- Gutierrez, A. M. B. 2009. Studies on fragrance, vase life and ethylene regulation of volatile production in rose flowers. University of Florida. 4-156.
- Heo, J. W., C. W. Lee, H. N. Murthy and K. Y. Paek. 2003. Influence of light quality and photoperiod on flowering of *Cyclamen persicum* Mill.cv.'Dixie White'. *Plant Growth Regulation*. 40: 7-10.
- Hu, Z., H. Zhang, P. Leng, J. Zhao, W. Wang and S. Wang. 2013. The emission of floral scent from *Lilium* 'siberia' in response to light and temperature. *Acta Physiologiae Plantarum*. 35: 1691-1700.
- Huang, M., A. M. Sanchez-Moreiras, C. Abel, R. Sohrabi, S. Lee, J. Gershenzon and D. Tholl. 2012. The major volatile organic compound emitted from *Arabidopsis thaliana* flowers, the sesquiterpene (*E*)- β -caryophyllene, is a defense against a bacterial pathogen. *New Phytologist*. 193:997-1008.
- 石坂 宏・植松盾次郎. 1990. 胚珠培養による *Cyclamen persicum* Mill. と *C. repandum* Sibth Sm.の種間雑種作出. 育種学会雑誌. 40 (別1) : 60-61.
- Ishizaka, H. and J. Uematsu. 1992. Production of interspecific hybrids of *Cyclamen persicum* Mill. and *C. hederifolium* Aiton by ovule culture. *Japanese Journal of Breeding* . 42:353-366.
- Ishizaka, H. and J. Uematsu. 1995. Interspecific hybrids of *Cyclamen persicum* Mill. and *C. purpurascens* Mill. produced by ovule culture. *Euphytica*. 82:31-37.

- Ishizaka, H. 1996. Interspecific hybrids of *Cyclamen persicum* and *C. graecum*. *Euphytica*. 91:109-117.
- Ishizaka, H., H. Yamada and K. Sasaki. 2002. Volatile compounds in the flowers of *Cyclamen persicum*, *C. purpurascens* and their hybrids. *Scientia Horticulturae*. 94: 125-135.
- Ishizaka, H., T. Oku, K. Mishiba and M. Mii. 2009. Identification of ploidy level of *Cyclamen rohlfsianum* plants through flow cytometric and cytological analysis of *C. rohlfsianum*, *C. purpurascens* and their hybrid. *Cytologia*. 74(4): 457-465.
- Jakobsen, H. B. and C. E. Olsen. 1994. Influence of climatic factors on emission of flower volatiles in situ. *Planta*. 192: 365-371.
- Jianhua, Z., M. B. McDonald and P. M. Sweeney. 1997. Testing for genetic purity in *Petunia* and *Cyclamen* seed using random amplified polymorphic DNA markers. *HortScience*. 32: 246-247.
- Jurgens, A., T. Witt and G. Gottsberger. 2003. Flower scent composition in *Dianthus* and *Saponaria* species (Caryophyllaceae) and its relevance for pollination biology and taxonomy. *Biochemical Systematics and Ecology*. 31: 345-357.
- Jurgens, A., S. Dotterl, S. Liede-Schumann and U. Meve. 2010. Floral scent composition in early diverging taxa of Asclepiadoideae, and Secamonoideae (Apocynaceae). *South African Journal of Botany*. 76: 749-761.
- 神田多. 1997. 培養苗生産 不定胚培養法による培養苗の販売と受託培養 農業技術大系花卉第5巻 : 695-700.
- Kang, K. J. , W. Oh, J. H. Shin and K. S. Kim. 2008. Night interruption and cyclic lighting promote flowering of *Cyclamen persicum* under low temperature regime. *Horticulture, Environment, and Biotechnology* 49: 72-77.
- Kings, N. W. , B. W. Bissinger, C. S. Apperson, D. E. Sonenshine and R. M. Roe. 2011. First report of the repellency of 2-tridecanone against ticks. *Medical and Veterinary Entomology*. 25: 202-208.
- Kishimoto, K., M. Nakayama, M. Yagi, T. Onozaki and N. Oyama-Okubo. 2011. Evaluation of wild *Dianthus* species as genetic resources for fragrant carnation breeding based on their floral scent composition. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*. 80: 175-181.
- Kishimoto, K., M. Yagi, T. Onozaki, H. Yamaguchi, M. Nakayama and N. Oyama-Okubo. 2013. Analysis of scents emitted from flowers of interspecific hybrids between carnation and fragrant wild *Dianthus* species. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*. 82: 145-153.
- Kishor, R. and G. J. Sharma. 2008. Intergeneric hybrid of two rare and endangered orchids, *Renanthera imschootiana* Rolfe and *Vanda coerulea* Griff. Ex L. (Orchidaceae): Synthesis

- and characterization. *Euphytica*. 165: 247-256.
- Kolosova, N., N. Gorenstein, C. M. Kish and N. Dudareva. 2001. Regulation of circadian methyl benzoate emission in diurnally and nocturnally emitting plants. *The Plant Cell*. 13: 2333-2347.
- Kuligowska, K., H. Lutken and R. Muller. 2016. Towards development of new ornamental plants: atatus snd progress in wide hybridization. *Planta*. 244: 1-17.
- Knudsen, J. T., L. Tollsten and F. Ervik. 2001. Flower scent and pollination in selected neotropical Palms. *Plant Biology*. 3: 642-653.
- 駒形智幸・高城誠志・本図竹司. 2002. シクラメンの品質保持に及ぼす観賞段階の気温及び照度の影響. 茨城県農業総合センター園芸研究所報告書第10号 16-21.
- Li, Y., H. Ma, Y. Wan, T. Li, X. Liu, Z. Sun and Z. Li. 2016. Volatile organic compounds emissions from *Luculia pinceana* flower and its changes at different stages of flower development. *Molecules*. 21:531.
- Mathew, B. and C. Clennett. 2013. The botany of cyclamen. p.1-18. In: Mathew B. (eds.): *Genus Cyclamen in Science, Cultivation, Art and Culture*. Royal Botanic Garden, Kew, Surrey, Kew Publishing. UK.
- McCormick, A. C., S. B. Unsicker and J. Gershenzion. 2012. The specificity of herbivore-induced plant volatiles in attracting herbivore enemies. *Trends in Plant Science*. 17:303-310.
- Miyazaki, T., A. Plotto, E. A. Baldwin, J. I. R.-D.-Corcuera and F. G. Gmitter Jr. 2012. Aroma characterization of tangerine hybrids by gas-chromatography -olfactometry and sensory evaluation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 92: 727-735.
- Miyazawa T, M. Gallagher, G. Preti, P. M. Wise. 2008. The Impact of Sub-threshold Carboxylic Acids on the Odor Intesity of Supra-threshold Flavor Compounds. *Chemosensory Perception*. 1: 163-167.
- Mohd-Hairul, A. R. , P. Namasivayam, G.E.C. Lian and J.O. Abdullah. 2010. Terpenoid, benzenoid, and phenylpropanoid compounds in the floral scent of *Vanda Mimi* Palmer. *Journal of Plant Biology*. 53: 358-366.
- Muhlemann, J. K. , A. Klempien and N. Dudareva. 2014. Floral volatiles: from biosynthesis to function. *Plant Cell and Environment*. 37: 1936-1949.
- 村山俊夫・杉山正夫・寺川輝彦. 2011. 青色系シクラメン品種の育成と組織培養による量産技術の開発. *研究ジャーナル*. 34 : 25-28.
- Naderi, R., M Alae, A. Khalighi, M. E. Hassani and S. A. Salami. 2009. Inter- and intra-specific genetic diversity among cyclamen accessions investigated by RAPD markers. *Scientia Horticulturae* 122: 658-661.
- Nagaoka, M. 2013. Cyclamen around the world. (c)Japan. p. 358-365. In: Mathew B. (eds.):

- Genus *Cyclamen* in Science, Cultivation, Art and Culture. Royal Botanic Garden, Kew, Surrey, Kew Publishing. UK.
- Niinemets, U., F. Loreto and M. Reichstein. 2004. Physiological and physicochemical controls on foliar volatile organic compound emissions. *TRENDS in Plant Science*. 9: 180-186.
- 野原功・豊田高明・佐藤敏弥. 1991. ヘッドスペース抽出による沈丁花の成分分析. 第35回 香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会. 143-144.
- Nowak, R. 2005. Chemical composition of Hips essential oils of some *Rosa* L. species. *Zeitschrift für Naturforschung C*. 60: 369-378.
- Oh, W., Y.H. Rhie, J. H. Park, E. S. Runkle and K. S. Kim. 2008. Flowering of cyclamen is accelerated by an increase in temperature, photoperiod, and daily light integral. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 83: 559-562.
- Oh, W., K.J. Kang, K. J. Cho, J. H. Shin and K. S. Kim. 2013. Temperature and long-day lighting strategy affect flowering time and crop characteristics in *Cyclamen persicum*. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*. 54: 484-491.
- Oyama-Okubo, N., T. Ando, N. Watanabe, E. Marchesi, K. Uchida and M. Nakayama. 2005. Emission mechanism of floral scent in *Petunia axillaris*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 69(4):773-777.
- Oyama-Okubo, N., M. Nakayama and K. Ichimura. 2011. Control of floral scent emission by inhibitors of phenylalanine ammonia-lyase in cut flower of liliium cv.'Cas Blanca'. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*. 80(2):190-199.
- Qin, X. W., C. Y. Hao, S. Z. He, G. Wu, L. H. Tan, F. Xu and R.S. Hu. 2014. Volatile organic compound emissions from different stages of *Cananga odorata* flower development. *Molecules*. 19: 8965-8980.
- Rhie, Y. H., W. Oh, J. H. Park, C. Chun and K. S. Kim. 2006. Flowering response of 'Metis Purple' cyclamen to temperature and photoperiod according to growth stage. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*. 47: 198-202.
- Rusanov, K. , N. Kovacheva, M. Rusanova and I. Atanassov. 2011. Traditional *Rosa damascene* flower harvesting practices evaluated through GC/MS metabolite profiling of flower volatiles. *Food Chemistry*. 129: 1851-1859.
- Sagae, M., N. Oyama-Okubo, T. Ando, E. Marchesi and M. Nakayama. 2008. Effect of temperature on the floral scent emission and endogenous volatile profile of *Petunia axillaris*. :*Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 72: 110-115.
- Schade, F., R. L. Legge and J. E. Thompson. 2001. Fragrance volatiles of developing and senescing carnation flowers. *Phytochemistry*. 56: 703-710.
- Shalit, M., I. Guterman, H. Volpin, E. Bar, T. Tamari, N. Menda, Z. Adam, D. Zamir, A. Vainstein, D. Weiss, E. Pichersky and E. Lewinsohn. 2003. Volatile ester formation in Roses.

- Identification of an acetyl-coenzyme A. Geraniol/citronellol acetyltransferase in developing rose petals. *Plant Physiology*. 131: 1868-1876.
- Sun, H., T. Zhang, Q. Fan, X. Qi, F. Zhang, W. Fang, J. Jiang, F. Chen and S. Chen. 2015. Identification of floral scent in *Chrysanthemum* cultivars and wild relatives by gas chromatography-mass spectrometry. *Molecules*. 20: 5346-5359.
- Syafaruddin, K. Kobayashi, Y. Yoshioka, A. Horisaki, S. Niikura, R. Ohsawa. 2006. Estimation of heritability of the nectar guide of flowers in *Brassica rapa* L. *Breeding Science*. 56:75-79.
- Takamura, T., I. Kiyajima and T. Maehara. 1993. Seedling selection and micropropagation for the breeding of yellow-flowered cyclamen cultivars. *Journal of the Faculty of Agriculture, Kyushu University*. 37: 265-271.
- 高村武二郎・北村裕美・田中道男. 2000. シクラメン花卉の底紅部分の花色および花色素とその遺伝. *園芸学会雑誌*. 69 (別1): 350.
- 高村武二郎・松本佳子・吉村奈津紀. 2002. シクラメン園芸品種と *Cyclamen africanum* の種間雑種作出に及ぼす窒素の影響. *園芸学会雑誌*. 71 (別1): 284.
- Takamura, T., M. Nakayama and H. Ishizaka. 2005. Inheritance of flower in crosses between *Cyclamen* cultivars and *Cyclamen purpurascens*. *Acta Horticulturae*. 673:437-441.
- 高村武二郎・相澤美里. 2007. シクラメン園芸品種と *Cyclamen hederifolium* Aiton との種間交雑における花卉でのアントシアニン生成の遺伝. *香川大学農学部学術報告*, 第59号: 45-48.
- 高津 康正・眞部 徹・霞 正一・山田 哲也・青木 隆治・井上 栄一・森中 洋一・丸橋 亘・林 幹夫. 2002. 南部アフリカ原産グラジオラス野生種の遺伝資源収集評価. *育種学研究*. 4: 87-94.
- Tanaka, Y., Y. Oshima, T. Yamamura, M. Sugiyama, N. Mitsudo, N. Ohtsubo, M. Ohme-Takagi and T. Terakawa. 2013. Multi-petal cyclamen flowers produced by AGAMOUS chimeric repressor expression. *Scientific reports*. 3: 2641. Doi: 10.1038/srep02641.
- Wellensiek, S.J. 1961. The breeding of diploid cultivars of *Cyclamen persicum*. *Euphytica*. 10: 259-268.
- 山下 英希・高村 武二郎. 2007. シクラメン園芸品種と *C. colchicum* および *C. mirabile* との種間雑種の作出. *園芸学研究*. 6 (別2): 587.
- 蓬田 勝之. 1992. 現代バラの香り. *香料*. 175: 65-89.
- 蓬田 勝之. 2015. バラの香りの美学. p.96-116. 東海教育研究所. 東京.
- 読売新聞. 2018. しあわせ小箱, シクラメンの香り. 1-4 (1/9, 1/10, 1/11, 1/12 掲載).